В.Г. ГАЛАКТИОНОВ

ЭВОЛЮЦИОННАЯ



ИММУНОЛОГИЯ



ИКЦ «АКАДЕМКНИГА»

УЧЕБНОЕ ПОСОБИЕ ДЛЯ ВУЗОВ



УДК 612.017.1
ББК 28.073
Г15

Рецензенты:
академик РАН Г.И. Абелев, доктор медицинских наук, профессор А.А. Ярилин

Галактионов В.Г.
Эволюционная иммунология: Учеб. пособие / В.Г. Галактионов. – М.: ИКЦ «Академкнига», 2005. – 408 с.: ил.

ISBN 5-94628-103-8

Современное руководство по эволюционной иммунологии, написанное известным в этой области специалистом. Книга состоит из двух частей: в первой описываются основные механизмы иммунной защиты у млекопитающих, вторая посвящена собственно эволюции иммунитета. Представлен фактический материал, касающийся проявлений иммунитета у организмов, расположенных на разных ветвях филогенетического древа: от одноклеточных до млекопитающих, рассказано о возникновении и историческом развитии Т- и В-систем иммунитета, формах функциональной активности этих систем у представителей различных таксонов. Особое внимание уделено эволюции суперсемейства иммуноглобулинов, роли специфического иммунитета в эволюции многоклеточности.

Для студентов и аспирантов биологических, медицинских и ветеринарных вузов, а также для биологов-эволюционистов и иммунологов.

ISBN 5-94628-103-8

ОГЛАВЛЕНИЕ

ПРЕДИСЛОВИЕ

Данная книга по характеру изложения материала представляет собой учебник. В основу положен материал монографии «Очерки эволюционной иммунологии» (1995 г.), которая была подготовлена, пожалуй, с единственной целью – представить собственные взгляды на роль исторически развивающегося иммунитета в прогрессивной, морфофункциональной эволюции животных по линии увеличения абсолютного количества соматических клеток.

В связи с тем, что данное издание является учебником, форма изложения материала изменена. В первой части дается общая характеристика работы иммунной системы у млекопитающих. В ней представлены известные факты об особенностях структурной организации и функциональной активности иммунной системы – всего того, что составляет основу современной иммунологии. Вторая, более объемная часть содержит материал, касающийся проблем эволюционного становления отдельных форм иммунной системы от одноклеточных и первичных многоклеточных до наиболее совершенных классов и типов животных. Подобный подход позволяет проследить историческое развитие отдельных звеньев и функций иммунитета.

Учебник предназначен для студентов биологических и ветеринарных высших учебных заведений, а также для всех тех, кто заинтересуется проблемами эволюционной иммунологии.

В процессе работы над книгой я постоянно ощущал внимание, интерес и прямую поддержку со стороны ученых, работающих в смежных направлениях: Н.Г. Хрущова, Г.И. Абелева, Ю.С. Ченцова, С.Г. Васецкого, В.И.Старостина, В.И.Миташева, А.А.Ярилина, Т.В. Анфаловой, Л.М. Хромых, М.Н. Ланге, Д.Б. Казанского, Л.А. Побезинского, А.М. Сапожникова и многих других.

Поскольку данная книга – первый опыт учебной литературы по представленному направлению иммунологических знаний, то характер изложения основного материала может грешить непредвиденными для автора недостатками. Всем, кто выскажет свои аргументированные замечания, автор будет крайне благодарен и учтет их в последующей работе.

ВВЕДЕНИЕ

Латинское слово immunitas, означающее освобождение от каких-либо обязанностей, неприкосновенность кого-либо, дало название науке иммунология, изучающей весь комплекс событий, которые в конечном итоге приводят к уничтожению антигенно чужеродных веществ, с которыми приходит в контакт организм.

По мере развития иммунологии традиционное понимание иммунитета как способа защиты от инфекционных микроорганизмов изменяется. В настоящее время понято, что иммунные механизмы защиты проявляются всегда, когда конкретный организм сталкивается с тем или иным чужеродным в антигенном отношении материалом — будь то бактерии, вирусы, мутационно измененные собственные клетки тела, тканевые и органные трансплантаты или простые химические соединения, которым приданы иммуногенные свойства. Иначе, **иммунитет есть способ защиты организма от всех антигенно чужеродных веществ как экзогенной, так и эндогенной природы; биологический смысл подобной защиты — обеспечение генетической целостности особей вида в течение их индивидуальной жизни.** При подобной трактовке иммунитета становится ясным, что он выступает в качестве фактора стабильности онтогенеза — необходимого условия передачи наследственного материала от поколения к поколению.

Основным предметом исследований в иммунологии является познание механизмов формирования специфического иммунного ответа организма ко всем чужеродным в антигенном отношении соединениям.

Наиболее характерными признаками иммунной системы, отличающими ее от иных систем организма, являются следующие:

1) способность дифференцировать все «свое» от всего «чужого»;

2) создание памяти от первичного контакта с чужеродным антигенным материалом;

3) клональная организация иммунокомпетентных клеток, проявляющаяся в способности отдельного клеточного клона реагировать только на одну из множества антигенных детерминант.

При изучении любой биологической проблемы исследователь невольно обращается (или по крайней мере должен обращаться) к ее сравнительно-историческим аспектам. Связано это в первую очередь с тем, что изучение механизмов, лежащих в основе какого-либо феномена только у млекопитающих, как правило, сталкивается с трудностями в силу эволюционно сложившейся множественности событий того или иного биологического явления. Путь, который помогает изучить отдельные элементы процесса, установить их взаимосвязь и тем самым прийти к пониманию явления в целом — это обращение к филогенетически менее организованным формам жизни с постепенным переходом от групп, в которых данное явление только зарождалось, к группам, в которых оно достигло максимального своего проявления.

Кроме того, как отмечали Н.В. Тимофеев-Ресовский и соавторы[1], эволюционное изучение какого-либо биологического явления может внести определенный вклад в понимание, а может быть и изменение теоретических взглядов на течение эволюционного процесса.

---

[1] *Тимофеев-Ресовский Н.В., Воронцов Н.Н., Яблоков А.В.* Краткий очерк теории эволюции. М.: Наука, 1969.

Подобные представления как нельзя лучше согласуются с оценкой роли иммунитета в прогрессивном эволюционном развитии животных. В свое время нами был выдвинут тезис о том, что **на эволюцию специфического иммунитета не следует смотреть только как на самостоятельную линию исторического развития, но скорее, как на такой процесс, который обеспечил прогресс в мире животных по линии увеличения абсолютного количества соматических клеток.**

Основной прием эволюционной иммунологии – сравнительный, использующий сопоставление конкретных форм иммунной реактивности у представителей одной определенной систематической группы с таковыми у других групп, эволюционно удаленных в той или иной степени от исходной. В связи с этим филогенетическое древо – схематизированный образ возможных эволюционных преобразований в мире животных – для сравнительного иммунолога выступает в качестве матрицы, в ячейки которой закладывается информация о состоянии иммунитета определенной таксономической группы.

На рис. В.1 изображено устоявшееся представление о филогенетических связях в мире животных. Красными кружками отмечены те группы животных, у

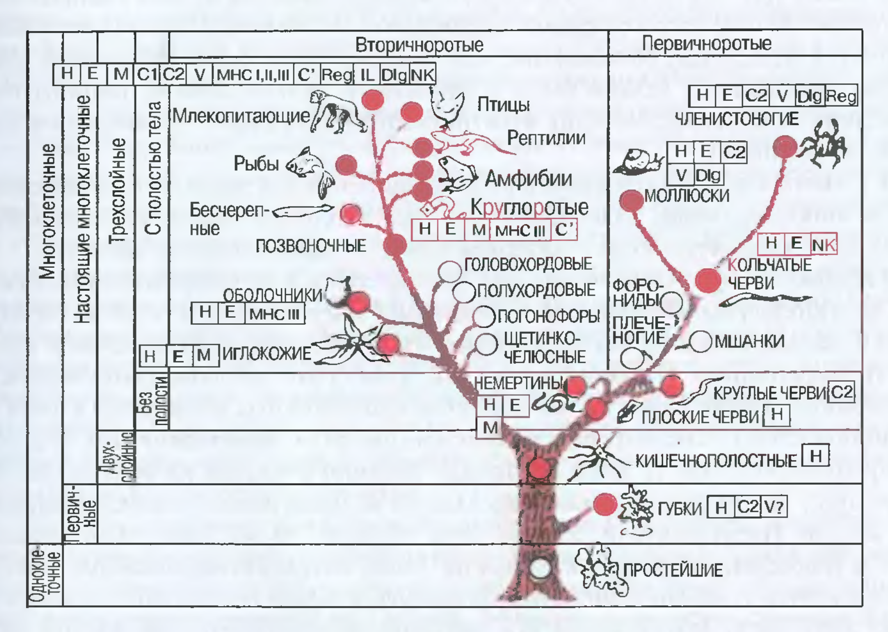


Рис. В.1. Филогенетическое древо взаимных отношений между основными типами животных, обладающих определенными формами иммунологической защиты

Красными кружками отмечены типы, у представителей которых изучались отдельные проявления иммунитета. H – отторжение алло(ксено-)трансплантата (реакция гистонесовместимости при генетическом контроле); E – эффекторные клетки мезодермального происхождения; M – специфическая память при отторжении трансплантата; C1, C2, V – различные типы доменов иммуноглобулинов; MHC I,II,III – классы главного комплекса гистосовместимости; C′ – комплемент; Reg – сохранение сигнала трансдукции в лимфоците; IL – гомологи или аналоги интерлейкинов; DIg – члены суперсемейства иммуноглобулинов, включенные в иммунологическую защиту; NK – активность натуральных киллерных клеток (НК-клеток)

представителей которых анализировались определенные формы иммунной реактивности.

Попытки понять самые начальные события в возникновении и развитии жизни на Земле привели к разработке ряда гипотетических построений, позволяющих представить те основные этапы, которые составили ранние эволюционные преобразования в органическом мире.

Биологическому развитию предшествовала химическая эволюция, которая привела к появлению полимерных молекул с информационными и каталитическими свойствами. Возникновение одноклеточного организма – первый шаг по пути биологической эволюции. Оформление самостоятельной клеточной единицы связано с появлением фазового раздела в виде мембраны между клеткой и окружающей водной средой. На следующем этапе прогрессивного развития имело место другое важное событие – возникновение многоклеточных организмов. Причины возникновения и дальнейшего развития многоклеточных являются предметом обсуждения. По-видимому, в основе данного биологического явления лежал акт нерасхождения клеток после деления. Некоторые силы адгезии удержали вместе две или более прошедших пролиферацию клеточных единиц. Ясно, что основную нагрузку в создании клеточного конгломерата взяли на себя белки клеточной мембраны, обладающие адгезивными свойствами. Возможно, среди прочих мембранных белков были и предковые, однодоменные полипептиды, относящиеся к суперсемейству иммуноглобулинов (Thy-1, β_2-микроглобулин, P_0-белок миелина).

Все многообразие мира животных распадается на два подцарства: одноклеточных и многоклеточных. Одноклеточные (тип Protozoa) возникли, очевидно, на грани двух геологических эр – катерхея и архея (около 3 млрд лет назад).

В подцарстве многоклеточных наиболее древним и низкоорганизованным типом являются губки (Porifera). Эти первичные многоклеточные еще не образуют тканей, их клетки слабо дифференцированы и обладают способностью к взаимной трансформации. Наиболее древние остатки губок найдены в докембрийских отложениях. Линия развития настоящих многоклеточных начинается с типа кишечнополостных (Coelenterata). Возникновение этих многоклеточных относят к концу архейской эры (2 млрд лет назад). Именно с уровня кишечнополостных происходит формирование тканевых пластов из однотипных дифференцированных клеток. Представители данного типа обладают двумя тканевыми слоями – экто- и эндодермального происхождения. Более высокоорганизованные типы характеризуются тканями и органами, формирующимися из трех зародышевых листков: экто-, мезо- и эндодермы. Все трехслойные многоклеточные делятся на более примитивных животных, у которых отсутствует полость тела (типы: плоские черви, немертины, круглые черви), и более совершенные формы – с полостью тела. Последние образуют две мощные самостоятельные филогенетические ветви – первично- и вторичноротых животных. Напомним, что отличительным признаком первичноротых является формирование рта на месте бластопора. Анальное отверстие прорывается на противоположном конце тела как самостоятельное образование. У вторичноротых ротовое отверстие формируется независимо от бластопора. Бластопор, как правило, преобразуется в анус. Возникновение первич-

норотых относят к протерозою (1900–570 млн лет назад). Для кебрия (570–490 млн лет назад) – наиболее раннего периода палеозоя – характерно наличие предков всех современных типов. Исключение составляют хордовые, которые появились несколько позднее – в начале ордовика (490–400 млн лет назад).

Сопоставление данных по иммунной реактивности современных видов животных с геологической летописью ископаемых форм позволяет установить время возникновения тех или иных типов иммунной реактивности.

До середины 1960-х годов иммунологи проводили резкую грань между способом иммунной защиты у беспозвоночных и таковым у позвоночных животных. Считалось, что все беспозвоночные, включая хордовых, обладают только неспецифической формой реагирования, в то время как позвоночные животные, начиная с челюстноротых позвоночных животных, являются носителями приобретенного иммунитета, характеризующегося специфичностью в распознавании антигена, индуцибельностью и формированием иммунологической памяти. Подобные различия в иммунной реактивности между двумя группами животных связывали с наличием у позвоночных тимуса, отсутствующего у беспозвоночных.

Предполагалось, что для беспозвоночных, у которых продолжительность жизни коротка, а интенсивность самовоспроизведения высока, достаточной является неспецифическая форма реагирования. Действительно, неспецифическая клеточная и гуморальная защита у беспозвоночных выражена хорошо. При этом представления о том, что беспозвоночные лишены каких-либо проявлений специфического иммунного реагирования, оказались ошибочными. Первые исследования, проведенные в середине 60-х годов прошлого столетия, показали способность представителей семейства дождевых червей – Eisenia foetida и Lumbricus terrestris – к специфическому отторжению аллогенной ткани и формированию кратковременной иммунологической памяти. Несколько позднее специфическое аллоиммунное отторжение было описано даже у таких низкоорганизованных многоклеточных, каковыми являются губки и кишечнополостные. Полученные факты ясно указывали на то обстоятельство, что специфический иммунитет не является прерогативой только позвоночных животных и его истоки, зачаточные формы иммунного реагирования кроются у беспозвоночных. Первые преадаптационные проявления специфической иммунной системы возникли очень давно – вероятно, с момента появления первых многоклеточных около 2–3 млрд лет тому назад.

В свое время при сопоставлении возникновения в филогенезе специфических форм реагирования с эволюционным появлением лимфоидных (или лимфоцитоподобных) клеток нами было высказано предположение о том, что лимфоцит как самостоятельный клеточный тип возник специально для осуществления клеточной формы иммунного реагирования, а понятия лимфоидный и иммунный – синонимы для обозначения одной и той же системы организма. Подобная оценка строилась на факте одновременного появления в эволюции нового клеточного типа – лимфоцита – у немертин и кольчатых червей и способности этих животных к специфическому отторжению трансплантата.

Морфологический аспект эволюции лимфоидной системы представляет самостоятельную проблему, в равной мере относящуюся как к гематологии, так и к иммунологии. По представлениям В.Н. Беклемишева, родоначальным клеточным

типом, давшим начало внутренней (мезенхимальной) среде организма, был блуждающий амебоцит кишечнополостных. Факт появления амебоцита-макрофага в филогенезе многоклеточных автор оценивает как важное арогенное событие, следствием которого явилось формирование целой системы органов, объединенных в лимфомиелоидный комплекс. Элементы комплекса в виде различного рода лимфоидных скоплений и узелков уже представлены у беспозвоночных с полостью тела: кольчатых червей, моллюсков, членистоногих, иглокожих, оболочников и др. Однако своего совершенства комплекс достиг у высших позвоночных животных.

Обращаясь собственно к филогенезу лимфоидной системы, следует выделить три основных исторических события, три эволюционных новшества:

1) возникновение лимфоцита как морфологически обособленного клеточного типа, основная функция которого – иммунологическая;

2) формирование лимфомиелоидной ткани в виде самостоятельного образования;

3) вычленение из лимфомиелоидного комплекса лимфоидной ткани в качестве автономной структуры со своими специфическими (иммунологическими) задачами.

Неоценимый вклад в развитие иммунологии вообще и эволюционной в частности внесли исследования, направленные на изучение процессов трансплантационного отторжения. После демонстрации Питером Медаваром того факта, что основной причиной несовместимости между донором трансплантата и реципиентом является иммунологический конфликт, обусловленный антигенными различиями, быстро накапливались факты об интимных, иммунологических механизмах отторжения. Именно в недрах трансплантационной иммунологии выяснена роль тимуса в реакциях клеточного реагирования и окончательно сформировано представление о двух формах иммунного ответа – клеточного и гуморального, стимулированы исследования по иммуногенетике трансплантационных антигенов, открыто явление иммунологической толерантности (неотвечаемости). В рамках же трансплантационной иммунологии начались исследования по проблеме антигенного распознавания.

В 1960–1970-годах – периода роста эволюционной иммунологии – метод трансплантации тканей стал одним из основных при изучении филогенеза специфического иммунитета. Простая констатация факта отторжения алло- или ксенотрансплантата и формирование при этом памяти на первичный контакт с антигеном утверждали наличие у отвечающего организма способности к иммунному реагированию. Именно при использовании приемов трансплантации удалось продемонстрировать наличие зачаточных форм специфического иммунитета у самых примитивных многоклеточных животных – губок и кишечнополостных, а также у более высокоорганизованных беспозвоночных – кольчатых червей. Также установлено усиление трансплантационного иммунного отторжения по мере подъема по филогенетической лестнице от менее организованных форм жизни к более совершенным ее представителям. Выяснено, что основной эффекторной клеткой в алло- и ксенотрансплантационном отторжении является лимфоцит, или, точнее, лимфоцитоподобный амебоцит. Данный факт, я повторюсь, был определяющим в понимании роли лимфоцита как самостоятельного клеточного типа, возникшего специально для осуществления иммунологических функций. И, наконец, изучение механизмов трансплантационного иммунного реагирования стимулировало

поиск систем гистосовместимости не только у позвоночных животных, но и у беспозвоночных.

Сравнительные данные по трансплантационному отторжению у различных групп животных, по возникновению и развитию Т- и В-систем иммунитета неизбежно ставили вопрос об эволюции тех структур, которые осуществляют специфичность ответа, т.е. проблему эволюции антигенраспознающих структур – Т-клеточных рецепторов (ТКР) и иммуноглобулинов. Решение данной проблемы невозможно без анализа эволюции всей группы белков, объединенных в суперсемейство иммуноглобулинов. Только через изучение исторического развития членов суперсемейства возможно представить себе путь эволюционного преобразования антигенраспознающих рецепторов.

М.Ф. Бернет (1964) был первым, кто определил иммунитет как ту реакцию организма, которая направлена на поддержание его генетической целостности. Подобное определение основано на том представлении, что иммунная реакция развивается не только на экзогенный чужеродный материал, но и на мутационно измененные собственные клетки. Действительно, спонтанный мутагенез в соматических клетках является достаточно хорошо изученным феноменом и представляет собой неизбежное следствие многоклеточности. Ясно, что чем больше соматических, активно пролиферирующих клеток у тех или иных филогенетически отличающихся форм жизни, тем больше вероятность генетических нарушений этих клеток и тем эффективнее должен быть контроль за этим мутационным потоком. Принимая взгляды Бернета за основу для своих построений, мы должны признать и другое: **иммунитет, взявший на себя функцию контроля за генетической целостностью организма, эволюционно совершенствуясь, обеспечил прогресс в мире животных по линии увеличения абсолютного количества соматических клеток исторически развивающихся форм жизни.**

Контрольная функция иммунитета как в онто-, так и в филогенезе представляет собой основное биологическое содержание иммунологии – самостоятельной естественнонаучной дисциплины.

Часть I. ОСНОВНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ИММУННОЙ ЗАЩИТЫ У МЛЕКОПИТАЮЩИХ

Глава 1. НЕСПЕЦИФИЧЕСКИЙ (ВРОЖДЕННЫЙ) ИММУНИТЕТ

Под неспецифическим иммунитетом подразумевают систему предсуществующих защитных факторов организма, присущих данному виду как наследственно обусловленное свойство. Так, собаки никогда не болеют чумой человека, а куры – сибирской язвой. Иммунитет, создаваемый анатомическими, физиологическими, клеточными и молекулярными факторами, которые являются естественными составляющими элементами организма, иначе называют *конституционным*. Такие факторы, как правило, не возникают вновь при встрече с патогеном, т.е. они не индуцибельны, у них нет строго специфической реакции на антигены микроорганизмов и они не способны сохранять память от первичного контакта с чужеродностью.

1.1. Барьерная функция эпителия

Наше тело защищено от внешней среды кожей и эпителиальными покровами: эпителиальными клетками, выстилающими желудочно-кишечный тракт, дыхательные пути, урогенитальный тракт. Инфекция возникает лишь тогда, когда патоген способен колонизировать эпителий или когда нарушается целостность эпителиальных покровов в результате механических повреждений (раны, ожоги) или укусов насекомых – переносчиков инфекционных заболеваний (блох, вшей, комаров, москитов, клещей). Кстати, трансмиссивный путь передачи возбудителя с помощью насекомых является основным механизмом поддержания инфекции в природных очагах (чума, клещевой энцефалит, малярия и многие другие).

Эпителиальные покровы – это не только механическая преграда для инфекционной агрессии. Клетки эпителия продуцируют определенный набор химических соединений либо убивающих микробов, либо подавляющих их рост. Так, кислый желудочный сок и пищеварительные ферменты верхних отделов желудочно-кишечного тракта являются реальной защитой от инфекции. Кроме того, эпителиальные клетки кишечника секретируют набор антибактериальных пептидов широкого спектра действия.

Эпителиальные покровы имеют свою собственную микрофлору непатогенных бактерий, которые препятствуют колонизации эпителия патогенными микроорганизмами. Один из механизмов отторжения патогенов связан с продукцией бактериями нормальной микрофлоры антибактериальных веществ, таких, например, как колицины – белки, продуцируемые Escherichia coli. Если нормальная микрофлора кишечника уничтожается в результате тех или иных воздействий (одно из них – антибиотикотерапия), то опустошенные места занимаются патогенными микроорганизмами, что приводит к серьезным кишечным заболеваниям. В табл. 1.1 представлены основные факторы эпителиальной формы защиты.

Таблица 1.1.

Механизмы антибактериальной защиты, осуществляемые эпителиальными покровами

Фактор защиты	Эффекторы
Механический	Плотное соединение эпителиальных клеток; смыв микроорганизмов движением жидкости и воздуха вдоль эпителиальных покровов
Химический	Жирные кислоты (кожа); ферменты: лизоцим (слюна, слезы, пот), пепсин (кишечник), низкий pH (желудок), антибактериальные пептиды – дефенсины (кишечник)
Микробиологический	Конкуренция нормальной микрофлоры с патогеном за источник питания и способность к преимущественной колонизации эпителия; продукция антибактериальных соединений

1.2. Гуморальные факторы

Все многообразие гуморальных факторов, принимающих участие в неспецифическом ответе, условно можно разделить на две группы: группу молекул-эффекторов, которые непосредственно действуют на патоген, обладая цитолитическими или цитостатическими свойствами, и группу молекул, которые выступают в качестве регуляторов, хемоаттрактантов, факторов воспаления или костимуляторов.

К первой группе следует отнести лизоцим, дефенсины, интерфероны, компоненты комплемента заключительного этапа каскада реакций, действующих по альтернативному пути развития системы.

Вторая группа включает различные классы цитокинов (хемокины, интерфероны, факторы некроза опухолей, интерлейкины). Подобное деление, конечно, условно, так как среди гуморальных факторов имеются молекулы двойного назначения. Так, интерфероны могут непосредственно блокировать размножение вирусов, и в этом случае выступают в качестве молекул-эффекторов, но в то же время являются стимуляторами клеток, действующих в очаге воспаления. Другой пример – факторы некроза опухолей, способные как к прямому лизису чужеродных клеток, так и к регуляции активности клеток воспалительного очага.

Лизоцим – гидролитический энзим секретов слизи представляет собой белок с молекулярной массой около 14 кДа; активно продуцируется фагоцитирующими клетками (нейтрофилами, макрофагами, эозинофилами), обладает ярко выраженными антибактериальными свойствами, разрушая пептидогликановый слой бактериальной стенки.

Дефенсины – широко распространенные в природе низкомолекулярные, антибактериальные белки, состоящие из 30–33 аминокислотных остатков. Они известны у растений, грибов, беспозвоночных и позвоночных животных, включая человека. У млекопитающих дефенсины локализуются в гранулах фагоцитирую-

щих клеток и сразу после активации фагоцитов в результате дегрануляции выбрасываются в экстрацеллюлярную среду. Основная функция этих белков – образование ионных каналов в бактериальной клетке, что приводит к их гибели.

Интерфероны – группа белков, продуцируемых вирус-инфицированными или активированными клетками. Среди прочих иммунорегуляторных функций интерфероны способны прямо подавлять размножение вирусов.

Всего известно три вида интерферонов (ИФН): ИФН-α (макрофагальный), ИФН-β (фибробластный) и ИФН-γ (лимфоцитарный, иммунный). ИНФ-α (молекулярная масса 16–20 кДа) продуцируют моноциты, макрофаги, нейтрофилы (клетки, принимающие непосредственное участие в воспалительном процессе) и В-лимфоциты. ИФН-β (молекулярная масса 20 кДа) – продукт активности фибробластов, также представленных в местах поражения внешних покровов – мест воспалительной реакции. Иммунный ИФН-γ образуется активированными Т-лимфоцитами и НК-клетками.

Индукторами синтеза ИФН являются РНК- и ДНК-содержащие вирусы, бактериальные продукты, полиэлектролиты (например, двуспиральная РНК). Антивирусный эффект ИФН реализуется через активацию ферментов, подавляющих транскрипцию и трансляцию вирусных геномов.

Схема

Основные компоненты комплемента и их функциональная активность

КЛАССИЧЕСКИЙ ПУТЬ
АЛЬТЕРНАТИВНЫЙ ПУТЬ
Комплекс антиген-антитело
Инициаторы
Поверхность патогенов
C1 C4 C2
Ранние компоненты системы комплемента
C3 B D
C3/C5-конвертаза
C4a C3a C5a
C3b
Заключительные компоненты комплемента C5b C6 C7 C8 C9
Пептидные медиаторы воспаления
Взаимодействие с рецепторами на фагоцитах. Опсонизация патогенов. Удаление иммунных комплексов
Формирование комплекса, атакующего мембраны. Лизис клеток

Комплемент – группа сывороточных белков, которые циркулируют в неактивной проэнзимной форме. Эти белки могут быть активированы различными специфическими и неспецифическими иммунологическими способами, которые конвертируют их в активную форму. Известно два пути активации системы комплемента: классический (специфический), зависящий от комплекса антиген–антитело, и альтернативный (неспецифический), который включается сразу же после контакта патогена с фагоцитирующими клетками пораженного организма. Независимо от того, что явилось провоцирующим фактором для включения того или иного пути активации, на заключительном этапе образуется одна и та же группа белков либо с литической активностью, либо со свойствами опсонинов или аттрактантов (медиаторов воспаления) (схема и табл. 1.2).

Таблица 1.2.

Функциональная активность белков системы комплемента

Функция	**Белки**
Взаимодействие с комплексом антиген–антитело на поверхности чужеродной клетки	C1q
Ферментативная активность по отношению к белкам системы комплемента	C1r, C1s, C2b, Bb, D
Опсонины и белки, связанные с мембраной чужеродной клетки	C4b, C3b
Медиаторы воспаления	C5a, C3a, C4a
Белки, образующие поры в мембране чужеродных клеток	C5, C6, C7, C8, C9

К гуморальным факторам воспаления относятся также белки острофазного ответа.

1.3. Эндоцитоз (пиноцитоз, фагоцитоз)

Эндоцитоз – реакция клеток, направленная на поглощение и переваривание растворимых, макромолекулярных соединений, а также чужеродных или структурно измененных, собственных клеток. Термин эндоцитоз является обобщающим для двух близких, но тем не менее самостоятельных процессов – *пиноцитоза и фагоцитоза.* Первый из них характеризуется поглощением и внутриклеточным разрушением макромолекулярных соединений, таких как белки, нуклеиновые кислоты, полисахариды, липопротеины, белковые комплексы. В то же время фагоцитоз – явление поглощения и переваривания клеткой (макрофагами, нейтрофилами) корпускулярного материала (бактерий, крупных вирусов, отмирающих собственных клеток организма или чужеродных клеток, таких, например, как эритроциты различных видов животных).

Объектом пиноцитоза как фактора неспецифической иммунной защиты являются, в частности, токсины микроорганизмов.

На рис. 1.1 представлены последовательные этапы захвата и внутриклеточного переваривания растворимых макромолекул, находящихся в экстрацеллюлярном пространстве. Адгезия таких молекул на клетке может осуществляться двумя способами: неспецифическим – в результате случайной встречи молекул с клеткой, и специфическим, который зависит от предсуществующих рецепторов на поверхности пиноцитирующей клетки. В последнем случае внеклеточные вещества выступают в качестве лигандов, взаимодействующих с соответствующими рецепторами. Адгезия веществ на клеточной поверхности приводит к локальной инвагинации (впячиванию) мембраны, завершающейся образованием пиноцитарного пузырька очень небольшого размера (приблизительно 0,1 мкм). Несколько слившихся пузырьков формируют более крупное образование – *пиносому*. На следующем этапе пиносомы сливаются с лизосомами, содержащими гидролитические ферменты, которые разрушают полимерные молекулы до олигомеров или мономеров. В тех случаях, когда процесс пиноцитоза реализуется через рецепторный аппарат, в пиносомах до слияния с лизосомами наблюдается отсоединение захваченных молекул от рецепторов, которые в составе дочерних пузырьков возвращаются на клеточную поверхность.

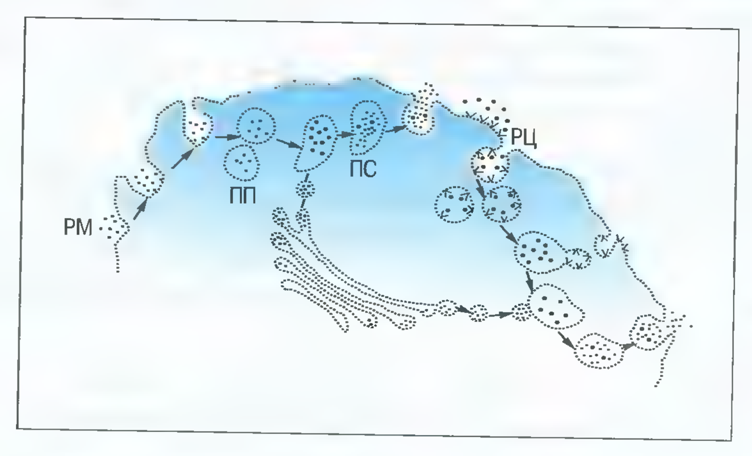


Рис. 1.1. Пиноцитоз макромолекул фагоцитами

ПП – пиноцитарный пузырек; ПС – пиносома; РМ – растворимые макромолекулы; РЦ – рецептор

Фагоцитоз как фактор неспецифической защиты проявляет себя при проникновении в организм патогенных микробов. Случайный или обусловленный рецепторами контакт микробной клетки с фагоцитом (макрофагом, нейтрофилом) приводит к образованию выростов мембраны – псевдоподий, окружающих чужеродную клетку. Сформировавшаяся вакуоль (фагосома) в 10–20 раз больше пиносомы. Она погружается в клетку, где после слияния с лизосомами образует фаголизосому. Именно в ней за счет активности гидролитических ферментов происходит полное или частичное разрушение патогена. Часть разрушенных компонентов микробной клетки удаляется в экстрацеллюлярную среду, другая остается на поверхности фагоцитирующей клетки (рис. 1.2).

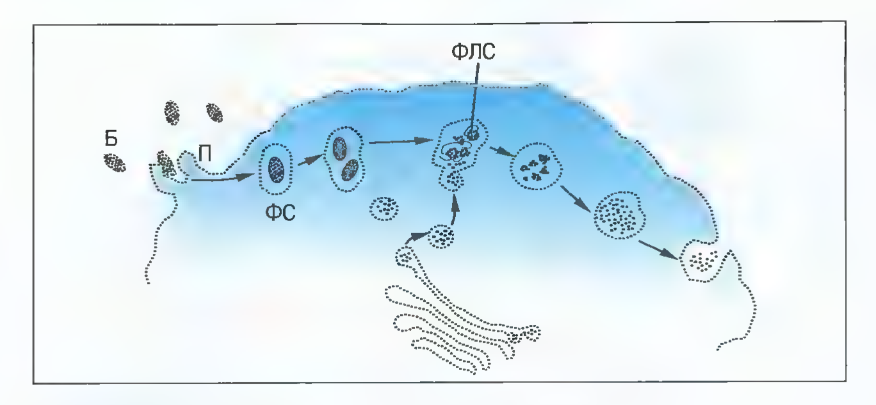


Рис. 1.2. Фагоцитоз бактерий
Б – бактерии; П – псевдоподии: ФЛС – фаголизосома: ФС – фагосома

1.4. Воспаление

Поврежденные кожные покровы являются наиболее доступными «воротами» для инфекционных агентов. Проникшие патогены индуцируют комплексную реакцию воспаления, которая направлена на локализацию и уничтожение микроорганизмов в месте внедрения (рис. 1.3). Наиболее характерные признаки

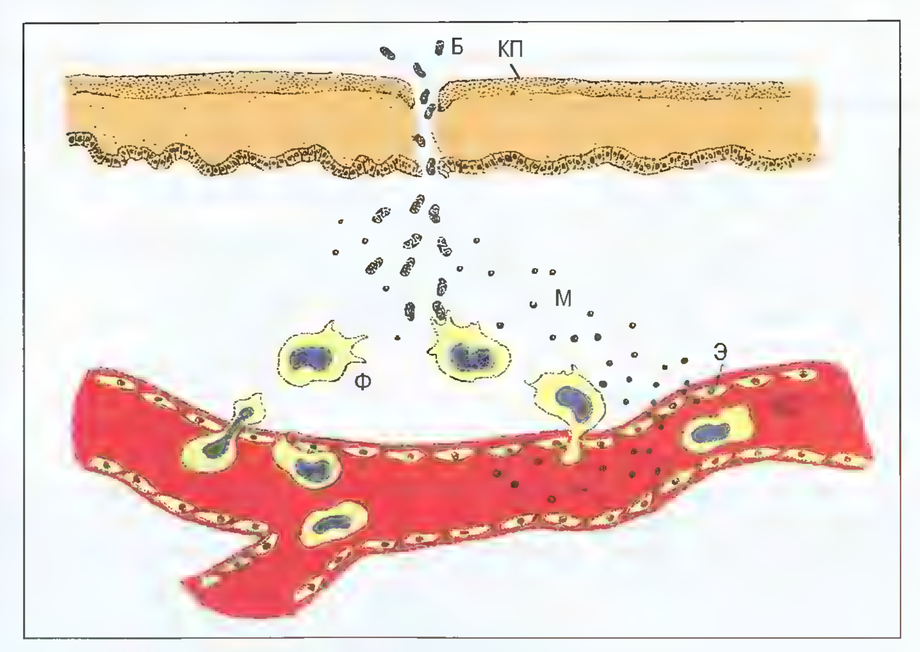


Рис. 1.3. Начальные этапы воспалительной реакции
Б – бактерии; КП – кожный покров; КС – кровеносный сосуд; М – медиаторы; Ф – фагоциты; Э – эндотелиальные клетки

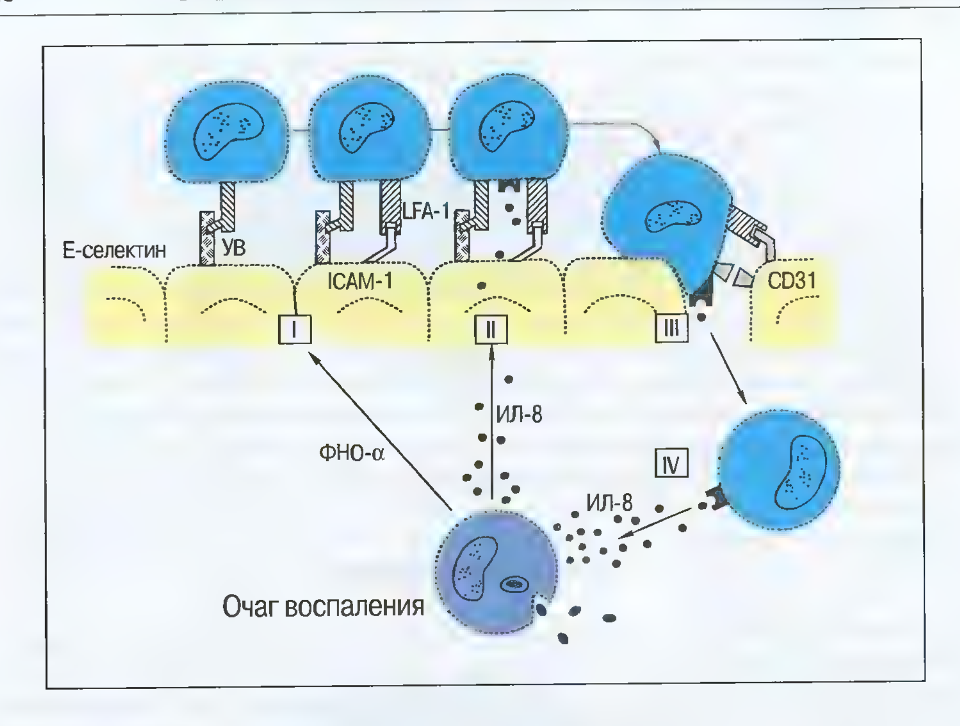


Рис. 1.4. **Этапы проникновения фагоцитирующих лейкоцитов из кровяного русла в очаг воспаления**

I этап: низкоаффинное взаимодействие адгезинов эндотелиальных клеток с лигандами лейкоцитов. Под влиянием ФНО-α, продуцируемого поглотившими антиген макрофагами в очаге воспаления, экспрессируется адгезивный белок Е-селектин на эндотелиальных клетках. Он взаимодействует при низком уровне аффинности с углеводными радикалами (УВ) поверхности лейкоцитов. Индуцируемый ФНО-α адгезин ICAM-1 вступает во взаимодействие с LFA-1 лейкоцитов. Данная форма взаимодействия также низкоаффинна. При подобных формах взаимодействия лейкоциты замедляют свое движение вдоль эндотелия, но не прекращают его полностью;

II этап: остановка движения лейкоцитов. ИЛ-8, продуцируемый активированными макрофагами, взаимодействует со своим рецептором на поверхности лейкоцитов, усиливая тем самым аффинность взаимодействия ICAM-1 с LFA-1, что и является причиной остановки движения;

III этап: диапедез. Остановившийся лейкоцит проходит между эндотелиальными клетками с помощью рецепторов CD31 и ICAM-1–LFA-1;

IV этап: миграция в очаг воспаления. Лейкоцит, оказавшийся в субэндотелиальной области, перемещается против градиента плотности ИЛ-8 в зону воспаления

реакции – это усиление кровотока, возрастание проницаемости капилляров, приток фагоцитирующих клеток. Увеличение кровоснабжения приводит к избыточному наполнению кровью капиллярной сети и в результате – к локальному покраснению. Повышенная проницаемость капилляров обеспечивает выход в поврежденную ткань плазмы и клеток крови, среди которых наибольшее количество приходится на фагоцитирующие клеточные формы. Миграция фагоцитов к месту повреждения включает три этапа: 1) адгезию на эпителиальном сосудистом слое; 2) проникновение через эпителий; 3) перемещение в район скопления микроорганизмов. В формировании воспалительного ответа принимает участие так-

же целый набор медиаторов. Среди них медиаторы, выделяемые микроорганизмами, поврежденной тканью, фагоцитирующими клетками, и группа медиаторов плазмы крови, получивших название белков острой фазы. Основным белком этой группы является С-реактивный протеин. Данный белок взаимодействует с полисахаридным компонентом клеточной стенки бактерий и грибов и активирует систему комплемента, которая лизирует микроорганизмы или опсонизирует их, способствуя поглощению микроорганизмов фагоцитирующими клетками.

Конкретная картина воспаления складывается из ряда последовательных событий как молекулярной, так и клеточной природы (рис. 1.4). Сам факт повреждения внешних покровов и проникновения в образовавшиеся «ворота» микроорганизмов из внешней среды является сигналом к активации эпителиальных и эндотелиальных клеток и умеренного количества фагоцитов и лимфоцитов, всегда присутствующих в подкожных клеточных слоях. Факторами активации выступают молекулы стенки микроорганизмов (бактериальные липополисахариды, пептидогликаны, сахара в составе гликопептидов). Именно на эти структуры сразу и непосредственно реагируют отмеченные клетки, имея определенные рецепторы к этим структурам. В первые же минуты (а может быть и доли минут) после распознавания патогена эндотелиоциты экспрессируют предсуществующие в гранулах клеток Р-селектин. Затем, в пределах часа, разворачиваются внутриклеточные события, приводящие к экспрессии генов для синтеза Е-селектина, а также группы цитокинов: ИЛ-1, ФНО-α, ИЛ-6, α-хемокинов (в первую очередь ИЛ-8) и β-хемокинов. Экспрессии этих генов помогают фагоциты и в первую очередь макрофаги, секретирующие целое семейство цитокинов (монокинов): интерлейкины-1, 6, 8, 12 и ФНО-α (табл. 1.3)

Таблица 1.3.

Функциональная активность цитокинов (монокинов), секретируемых активированными макрофагами

Цитокины	Локальные эффекты	Системные эффекты
Интерлейкин-1	Активация сосудистого эндотелия; активация лимфоцитов; усиление прохождения эффекторных клеток через эндотелий; локальное разрушение тканей	Лихорадка, пирогенный эффект, инициация продукции ИЛ-6
Интерлейкин-6	Активация лимфоцитов	Повышение температуры тела
Интерлейкин-8	Хемотаксический фактор для лейкоцитов; усиление прохождения эффекторных клеток через эндотелий	
Интерлейкин-12	Увеличение продукции антител	Индукция белков острой фазы
Фактор некроза опухолей α (ФНО-α)	Активация сосудистого эндотелия и увеличение проницаемости сосудов, что обеспечивает увеличение поступления IgG, комплемента и клеток в зону проникновения патогена, усиливает ток лимфы через лимфатические узлы	Повышение температуры тела, мобилизация метаболитов, инициация шока

Особое место среди цитокинов занимают хемокины, поскольку именно они являются наиболее важными хемоаттрактантами, привлекающими в зону воспаления фагоцитирующие клетки: макрофаги и нейтрофилы.

Весь процесс миграции лейкоцитов через эндотелиальный слой кровеносных сосудов начинается с низкоаффинного взаимодействия селектинов (в первую очередь Е-селектина) с углеводным радикалом на поверхности лейкоцита. Подобное взаимодействие замедляет, но не останавливает движения клетки вдоль эндотелия сосуда. Под влиянием ФНО-α начинается экспрессия адгезина ICAM-1, который вступает во взаимодействие с LFA-1 лейкоцита. Эта форма взаимодействия также низкоаффинна, но тем не менее выступает дополнительным фактором, снижающим скорость передвижения лейкоцитов. На втором этапе происходит остановка скольжения (роллинга) лейкоцитов. ИЛ-8, который начинает продуцироваться эндотелиальными клетками и макрофагами под влиянием ФНО-α, взаимодействует со своим рецептором на лейкоцитах и, усиливая тем самым аффинность взаимодействия ICAM-1/LFA-1, обеспечивает полную остановку движения перемещающихся клеток. Остановившийся лейкоцит вступает в третий этап воспалительного процесса – проход между эндотелиальными клетками из кровяного русла в очаг воспаления. Этот процесс реализуется с помощью рецепторов CD31 и ICAM-1/LFA-1. В зарождающемся очаге воспаления уже имеются фагоцитирующие клетки, секретирующие ИЛ-8. Лейкоцит, оказавшийся в субэпителиальной области, перемещается против градиента плотности ИЛ-8 в зону формирования очага воспаления (см. рис. 1.4).

1.5. Натуральные киллеры

К особой категории факторов неспецифической защиты относятся *натуральные киллеры* (НК). Они представляют собой популяцию лимфоидных клеток, лишенных характерных маркеров Т- или В-лимфоцитов. По морфологическим признакам – это большие гранулярные лимфоциты. Участие НК-клеток в неспецифическом иммунном ответе состоит в способности оказывать прямое цитотоксическое действие на злокачественно трансформированные, лишенные собственных антигенов главного комплекса гистосовместимости I класса (HLA-A,B,C – у человека и H2-K,D у мышей) вирусинфицированные клетки, а также клетки, поглотившие некоторые внутриклеточные патогены.

Начальные этапы включения НК-клеток неразрывно связаны с активностью макрофагов, которые представлены в очаге воспаления. Именно макрофаг, секретируя ИЛ-12 и ИФН-α и ИФН-β, активирует НК-клетки. НК-клетки (фенотип $CD56^+$, $CD16^-$), провзаимодействовав с клеткой-мишенью, остаются функционально неактивными до тех пор, пока не испытают на себе влияние этих макрофагальных цитокинов. Литическое действие активированных НК-клеток (фенотип $CD56^+$, $CD16^+$, CD122 – β-цепь рецептора для ИЛ-2) в 100 раз выше, чем неактивированных. Появление рецептора к ИЛ-2 обеспечивает дальнейшее усиление киллерного действия клеток и их трансформацию в ЛАК-клетки (лимфокинактивированные клетки), а также К-клеток, имеющих адсорбированный IgG. Два последних типа естественных

киллеров обладают более широким спектром мишеней и высоким уровнем цитолиза.

Для распознавания клеток-мишеней и активирующих сигналов НК-клетки имеют целый набор поверхностных рецепторов, которые можно разделить на специфические для данной клеточной формы и общие с другими типами клеток (рис. 1.5). Так, типичными рецепторами НК-клеток являются рецепторы группы KIR (CD158a,b,c), распознающие собственные антигены главного комплекса гистосовместимости I класса и препятствующие тем самым реакции цитолиза «своих» клеток. До недавнего времени к категории собственных маркеров относили также рецептор CD56 (NKH-1). Однако, как выяснилось, он экспрессируется и на так называемых НК Т-клетках, имеющих эволюционно более древний $_{\gamma\delta}$Т-клеточный рецептор ($_{\gamma\delta}$ТКР). Филогенетически НК Т-клетки являются переходной формой от истинных НК к самостоятельной популяции Т-клеток.

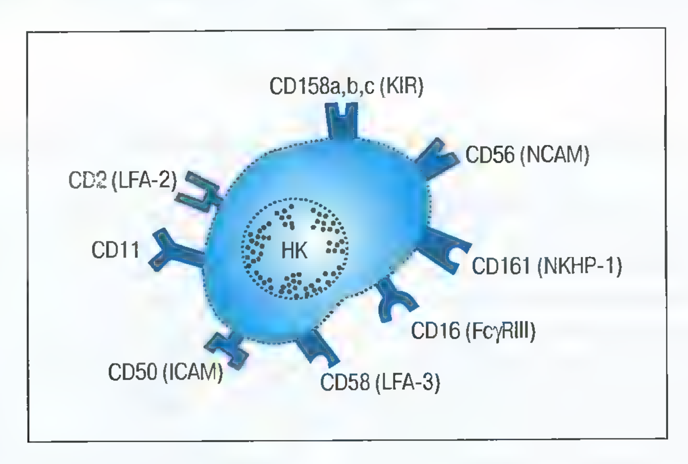


Рис. 1.5. **Рецепторы НК клеток**

Функционально наиболее значимые рецепторы CD161 (NKR-P1) и CD16 (FcγRIII). Первый из них распознает концевые остатки маннозы, в норме заблокированные сиаловыми кислотами. Однако они открыты на вирустрансформированных и злокачественно перерожденных клетках. Рецептор CD161 представлен также на макрофагах и выполняет ту же распознающую углевод функцию. Рецептор CD16 обеспечивает адгезию IgG1 и IgG3 на поверхности НК-клеток. Провзаимодействовавшие с иммуноглобулином клетки получили название К-клеток. Понятно, что спектр мишеней для таких клеток значительно расширен. Кроме НК-клеток CD16 представлен у макрофагов.

Кроме отмеченных рецепторов НК-клетки обладают набором поверхностных белковых структур с адгезивными свойствами, которые способствуют установлению прочного контакта с клетками-мишенями. Эта группа рецепторов является общей с другими клетками. К ним в первую очередь относятся: LFA-1,2,3; CD11/CD18; ICAM-1 и др. (см. табл. 2.3).

***

Неспецифический иммунитет как предсуществующая реакция организма на чужеродный антигенный материал, включающая в первую очередь ответ на вирусные и бактериальные патогены, характеризуется рядом конституционных свойств. К ним относятся барьерная функция эпителия, активность гуморальных антибактериальных и антивирусных факторов, реакция эндоцитоза фагоцитирующими клетками, реакция воспаления, активность натуральных киллерных клеток. Ни одно из этих свойств в конкретных условиях патогенного поражения не проявляет себя автономно, но действует совместно, обеспечивая достаточно мощный заслон чужеродным агентам.

Однако многосторонняя, сильная система неспецифической защиты не во всех случаях справляется с возложенной на нее функцией. В связи с этим у высших многоклеточных организмов эволюционно развилась дополнительная система защиты – специфический (адаптационный) иммунитет.

Глава 2. КЛЕТКИ, ТКАНИ И ОРГАНЫ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ

При изучении иммунной системы как целого необходимо знать ее морфологические границы и установить те факторы, которые определяют свойственные только этой системе функциональные проявления. Собственно функциональная нагрузка в данном случае очевидна и отражена в самом названии системы. Вопрос заключается в другом: является ли система иммунной защиты полностью самостоятельной составляющей организма или же она представляет собой часть кроветворной системы? Для того чтобы иммунную систему вывести в самостоятельный ранг, необходимо определить признаки, которые свойственны исключительно этой системе и не перекрываются с другими морфофункциональными особенностями организма. Критерии, используемые в подобных случаях, являются общими для определения любой системы организма и должны касаться ее молекулярной, клеточной и органной автономии.

В данной и последующих главах будет рассказано о клетках, тканях и органах иммунной системы с обращением особого внимания на те характерологические особенности их строения и функции, которые позволяют утверждать, что понятия «лимфоидный» и «иммунный» – суть синонимы для определения одной и той же системы организма.

2.1. Лимфоидная ткань и органы

Иоффи и Куртис (Yoffey, Courtice, 1970) объединили лимфоидную и кроветворную системы в единый лимфомиелоидный комплекс (рис. 2.1). Комплекс представляет собой систему органов и тканей, паренхима которых содержит клетки мезенхимального происхождения. В него входят: костный мозг, тимус, селезенка,

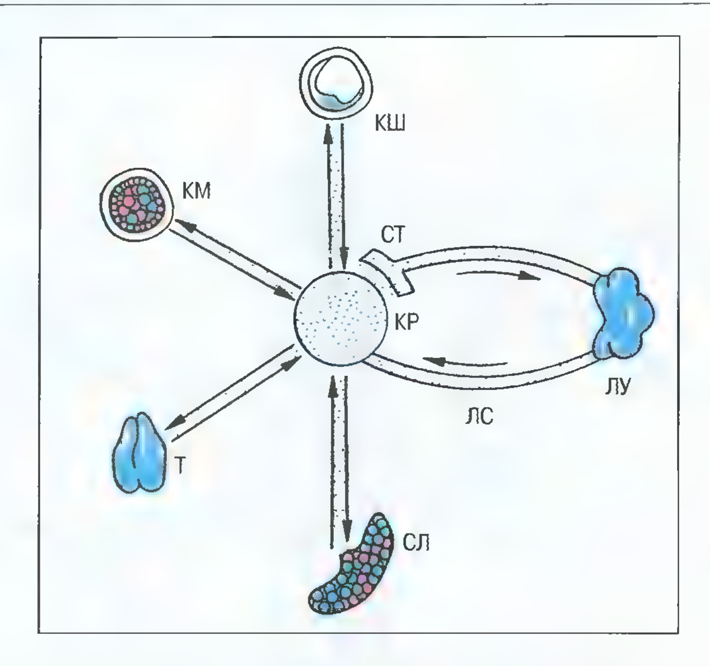


Рис. 2.1. **Схема лимфомиелоидного комплекса (Yoffey, Courtice, 1970)**

КШ – кишечник; КМ – костный мозг; КР – кровь; ЛС – лимфатические сосуды; ЛУ – лимфатический узел; СЛ – селезенка; СТ – соединительная ткань; Т – тимус

лимфатические узлы, лимфоидная ткань кишечника и соединительная ткань. Функциональное назначение комплекса – обеспечение кроветворения (миелопоэза) и формирование клеток иммунной системы (лимфопоэза). Среди органов и тканей комплекса имеются истинно лимфоидные образования, в которых происходит только лимфопоэз (тимус, лимфатические узлы, лимфоидная ткань кишечника) и «смешанные» образования, где представлен как лимфо-, так и миелопоэз (костный мозг, селезенка).

Лимфоциты происходят от стволовых клеток костного мозга и дифференцируются в центральных лимфоидных органах: В-лимфоциты – в костном мозге и Т-лимфоциты – в тимусе. Из этих органов они мигрируют по кровеносному руслу в периферическую лимфоидную ткань – лимфатические узлы, селезенку и лимфоидную ткань, ассоциированную с кишечником (пейеровы бляшки, аппендикс, миндалины). Лимфатические сосуды, дренирующие тело, собирают внеклеточную жидкость – лимфу – и переносят ее в лимфатические узлы. Лимфоциты, которые циркулируют в кровотоке, проникают в периферические лимфоидные органы и в результате выносятся лимфой в грудной проток, откуда они вновь возвращаются в кровоток.

Таким образом, для лимфоцитов имеется главный миграционный путь: костный мозг, тимус → кровеносные сосуды → периферические лимфоидные органы и ткани, и путь рециркуляции: периферические лимфоидные органы → лимфатические сосуды → грудной проток, который осуществляет обмен лимфой и клетками с кровеносной системой, → периферические лимфоидные органы и ткани (рис. 2.2 и 2.3).

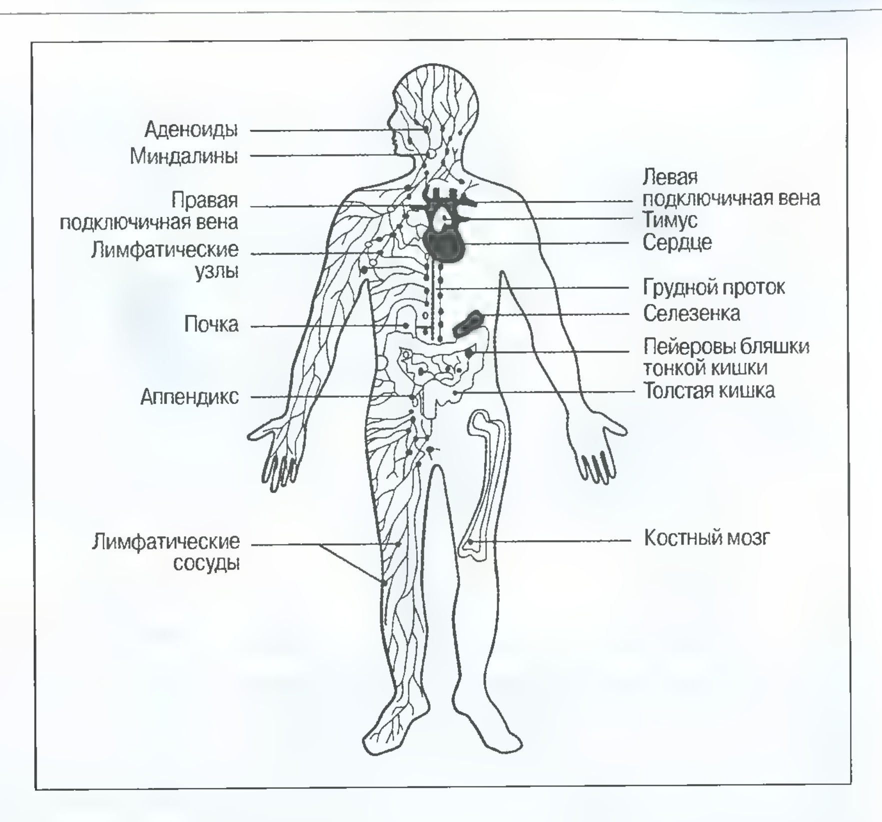


Рис. 2.2. Лимфоидная ткань человека

Костный мозг и тимус – центральные органы иммунной системы. Из них лимфоциты по кровеносным сосудам мигрируют в периферические органы: селезенку, лимфатические узлы, лимфоидную ткань, ассоциированную с желудочно-кишечным трактом (пейеровы бляшки тонкого кишечника, аппендикс, миндалины). Кроме того, лимфоциты представлены в нелимфоидных органах (почках, печени, подкожной соединительной ткани). Лимфатические сосуды, пронизывающие все тело, собирают лимфоциты из внеклеточной жидкости в лимфатические узлы. Оказавшиеся в лимфоузлах клетки по эфферентным сосудам поступают в основной лимфатический сосуд – грудной проток, из которого они вновь проникают в кровь через левую подключичную вену

Лимфоциты относятся к той категории клеток, которые широко распространены по организму. В теле человека и позвоночных животных они сгруппированы в три типа объединений (рис. 2.4). Первый тип – диффузная инфильтрация подкожной соединительной ткани и слизистых оболочек. Этот тип не имеет строгой локализации и образуется в ответ на повреждение кожи или местное проникновение патогена. Второй тип представляет собой скопление лимфоцитов в виде отдельных узелков в подслизистой пищеварительного и дыхательного трактов. Подобная форма скопления относится ко второму типу клеточного объединения и представляет собой неинкапсулированную лимфоидную ткань. И, наконец, третий тип – это форма организации лимфоидной ткани в органы. При этом типе объединения лимфоидная ткань замкнута в соединительнотканную капсулу, что придает ей вполне конкретную морфологическую автономность.

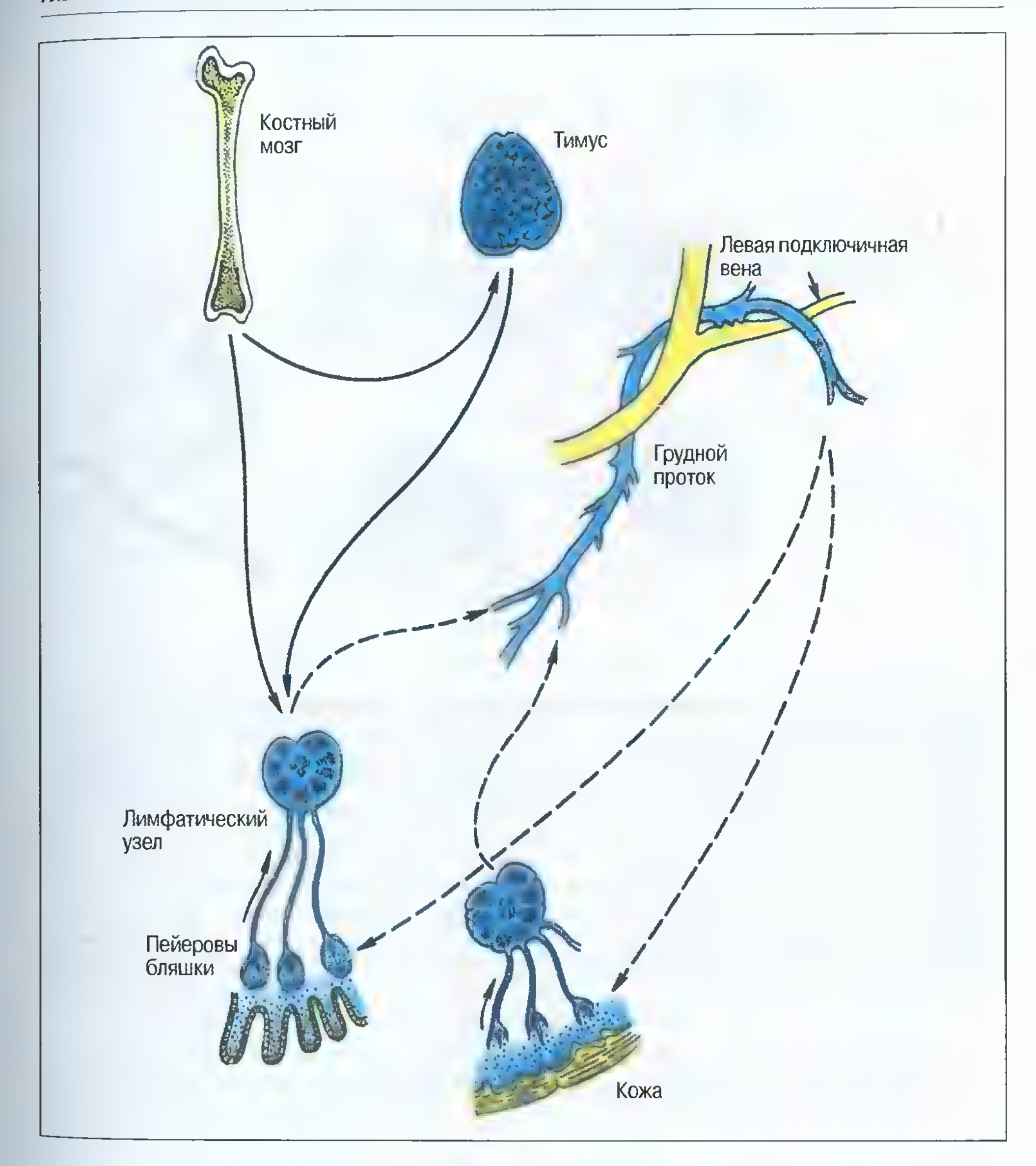


Рис. 2.3. Миграция и рециркуляция лимфоцитов

Лимфоциты из костного мозга – источника В-клеток и самых ранних предшественников Т-клеток (пре-Т-клеток), мигрируют по кровеносным сосудам в периферические лимфоидные органы (В-клетки) и в тимус (пре-Т-клетки). Направление миграции отмечено сплошными стрелками. В тимусе происходит созревание пре-Т-клеток, после чего они также мигрируют на периферию. В периферических лимфоидных органах и тканях возможна встреча специфических лимфоцитов с антигеном, что вызовет остановку их перемещения. Невостребованные лимфоциты, составляющие значительное большинство, вступят в процесс рециркуляции. Покидая лимфоидный орган по эфферентным лимфатическим сосудам, они оказываются в грудном протоке – главном сосуде лимфоидной системы, из которого лимфоциты вновь проникают в кровоток через левую подключичную вену (v. subclavia). Пути рециркуляции отмечены пунктирными стрелками

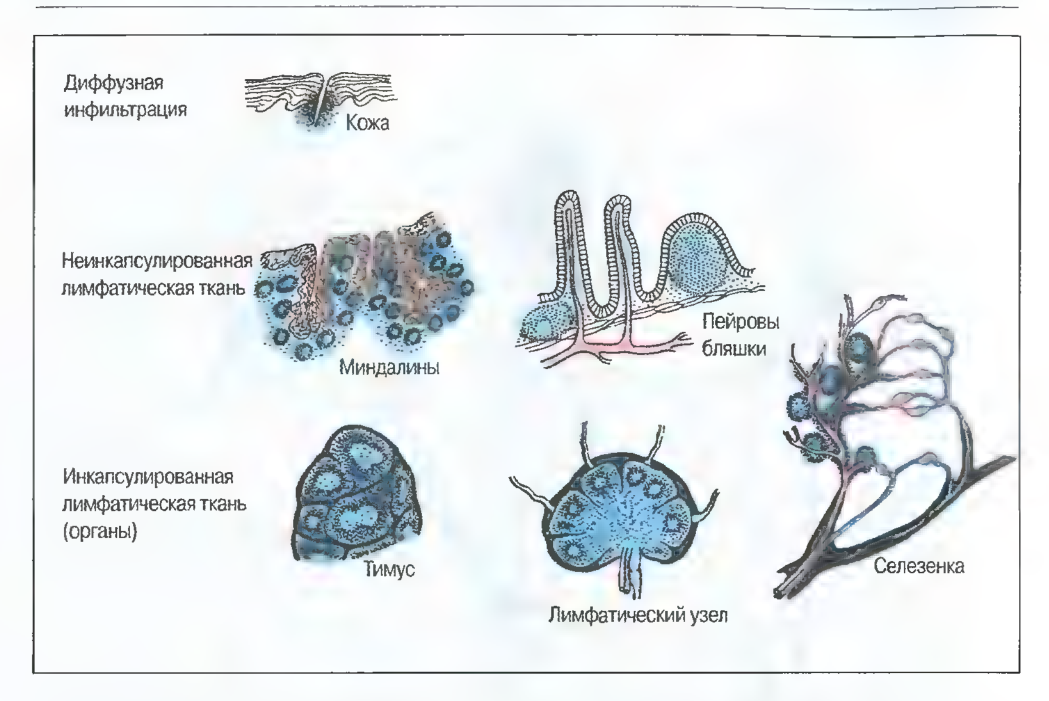


Рис. 2.4. Различные типы морфологической организации скоплений лимфоцитов

Наиболее простая форма организации лимфоцитов – диффузная инфильтрация клетками соединительной ткани, расположенной ниже слизистых покровов пищеварительной и дыхательной систем, а также в подкожной соединительной ткани (гиподерме). Эти скопления лимфоцитов нельзя классифицировать как тканевые образования в силу непостоянства места локализации, а также количественного и качественного состава клеток. К истинно лимфоидным тканевым образованиям следует относить скопления лимфоцитов, собранных в узелки (миндалины, пейеровы бляшки). Основным признаком тканевой. но не органной, организации лимфоцитов является отсутствие соединительнотканной капсулы. Скопления лимфоцитов, объединенных в единую морфологическую единицу соединительнотканной капсулой и обладающих территориальной структурированностью по основным клеточным типам (Т-зоны, В-зоны, кора, медулла), позволяют классифицировать их как органы лимфоидной системы

Различные типы организации лимфоцитов обеспечивают наиболее эффективное проявление лимфоидной (иммунной) системы при встрече с чужеродным антигеном.

2.1.1. Костный мозг

Костный мозг локализован во внутренней полости трубчатых костей и представляет собой тканевое объединение ретикулярной стромы, плотно упакованных гемопоэтических и лимфоидных клеток, а также разветвленной сети капилляров.

Основное назначение костного мозга – продукция клеток крови и лимфоцитов (рис. 2.5). Развитие клеточных элементов костного мозга начинается от полипотентной стволовой кроветворной клетки (СКК), которая дает начало шести росткам дифференцировки:

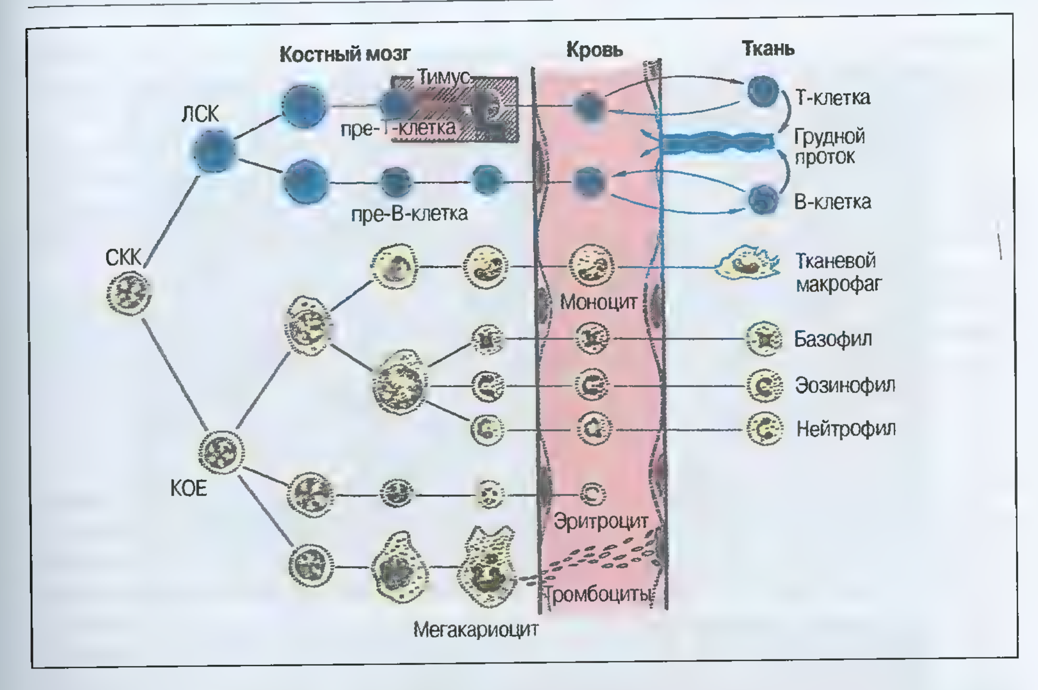


Рис. 2.5. Дифференцировка клеток лимфомиелоидного комплекса от стволовой плюрипотентной кроветворной клетки (СКК) костного мозга до зрелых клеток периферических тканей

На первом этапе дифференцировки образуются полипотентные предшественники миелопоэза (КОЕ) и лимфопоэза – лимфоидные стволовые клетки (ЛСК). КОЕ дает начало формированию мегакариоцитам, эритроцитам и гранулоцитам (базофилам, эозинофилам, нейтрофилам), а также моноцитам. ЛСК обеспечивают развитие В-клеток и самых ранних предшественников Т-клеток (пре-Т-клеток), мигрирующих в тимус для дальнейшего развития. Дифференцированные клетки костного мозга проникают в кровеносную систему с тем, чтобы затем колонизировать ткани, где и завершают свой жизненный цикл. Исключение составляют эритроциты – переносчики кислорода, и тромбоциты, участвующие в закупорке поврежденных сосудов. Для этих клеточных форм развитие заканчивается в кровеносной системе. Моноциты крови представляют собой промежуточную форму и завершают дифференцировку на периферии, образуя тканевые макрофаги

1) *мегакариоцитарному*, заканчивающемуся образованием тромбоцитов;

2) *эритроидному*, с формированием безъядерных, переносящих кислород эритроцитов крови;

3) *гранулоцитарному*, с тремя дополнительными направлениями дифференцировки, приводяшими к образованию трех самостоятельных клеточных типов: базофилов, эозинофилов, нейтрофилов; эти клетки принимают непосредственное участие в процессах воспаления и фагоцитоза и являются, таким образом, участниками неспецифической формы защиты от патогенов;

4) *моноцитарно-макрофагальному;* на территории костного мозга дифференцировка в данном направлении завершается образованием моноцитов, мигрирующих в кровь; окончательные зрелые формы в виде тканевых макрофагов локализуются в различных органах и тканях, где они получили специфические названия:

гистиоциты соединительной ткани, звездчатые ретикулоциты печени, макрофаги селезенки, макрофаги лимфатических узлов, перитонеальные макрофаги, плевральные макрофаги, клетки микроглии нервной ткани:

5) *Т-клеточному*; данный росток дифференцировки на территории костного мозга проходит только самый начальный этап развития – формирование от лимфоидной стволовой клетки предшественника Т-клеток (пре-Т-клетки); основные события по созреванию различных субпопуляций клоноспецифических Т-клеток разворачиваются в тимусе;

6) *В-клеточному*; в отличие от Т-клеточного направления развития В-клеточная дифференцировка характеризуется практически полной завершенностью; в связи с этим не случайно костный мозг относят к центральному органу иммунитета.

2.1.2. Тимус

Другим центральным органом иммунной системы является тимус – лимфоэпителиальный орган, расположенный у большинства млекопитающих в верхней части грудной полости над сердцем. Он состоит из двух основных долей, которые делятся на более мелкие дольки. Орган в целом и отдельные дольки заключены в соединительнотканную капсулу, внутренняя полость которой включает эпителиальную сеть, заполненную лимфоцитами (другое название лимфоцитов тимуса – *тимоциты*). В каждой дольке ясно выявляются два слоя: кора с плотной упаковкой малых тимоцитов и мозговое вещество (медуллярный слой), где количество тимоцитов снижено (рис. 2.6, *а*). Тимоциты медуллярного слоя относятся в основном к бластным формам.

Особенностью организации тимуса является наличие двух элементарных структурно-гистологических единиц: *фолликулов Кларка* (рис. 2.7) и *телец Гассаля* (рис. 2.6, *а,б*). В корковом слое фолликулы Кларка представляют собой как бы отдельные «кирпичики», из которых построен этот слой. Плотно упакованные лимфоциты и расположенные среди них макрофаги окружены эпителиальными клетками, что вместе и создает элементарную структурно-гистологическую единицу. В медуллярной зоне наблюдаются свободные от лимфоцитов округлые скопления эпителиальных клеток, получивших название телец Гассаля. Функциональное назначение телец неясно. По мнению одних исследователей, они образуются в результате активной деструкции тимоцитов, что приводит к «обнажению» эпителиальных элементов. Другие авторы склонны видеть в тельцах Гассаля активные эпителиальные структуры, функция которых – продукция регуляторных факторов, поступающих в циркуляцию. В эмбриогенезе строма органа формируется из двух зародышевых листков: экто- и эндодермы. У мышей зачаток тимуса образуется из эндодермы третьего глоточного кармана и эктодермы третьей жаберной щели (рис. 2.8). В результате развития двух слоев эндодермальный росток постепенно окружается эктодермой жаберной щели. Образовавшаяся структура получила название шейного пузырька. При дальнейшем развитии эктодермальный вырост полностью захватывает эндодерму глоточного кармана, происходит отщепление экто- и эндодермальных развивающихся участков от основных слоев, что приводит в результате к формированию тимусного зачатка. Эктодермальный слой дает начало эпителиальным клеткам коры, в то время как эндодерма становится источником эпителиальных клеток медуллы.

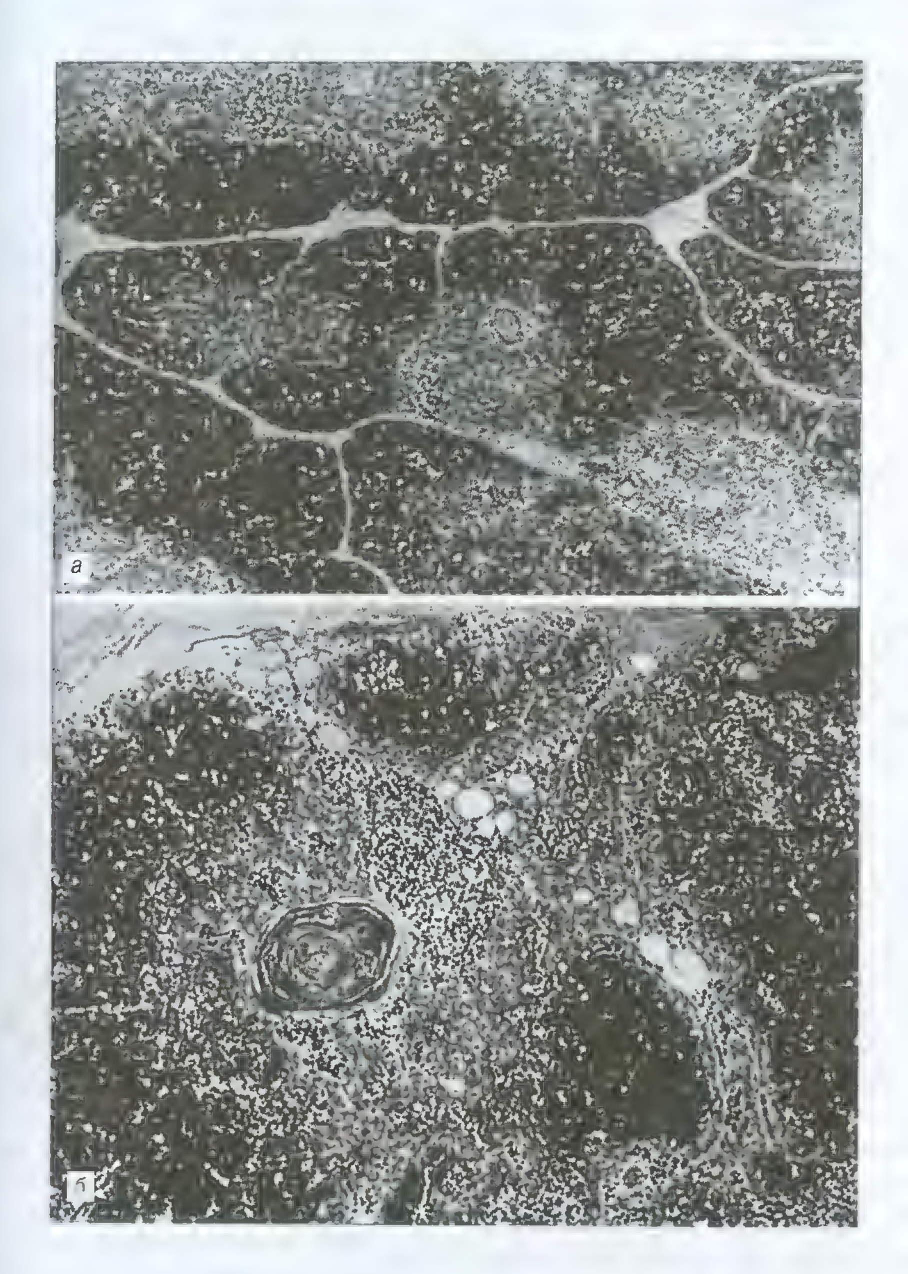


Рис. 2.6. Гистологическая картина тимуса

а – дольки тимуса разделены между собой соединительнотканными перегородками. В каждой дольке видны два слоя: кора с плотно упакованными малыми лимфоцитами (более темная часть дольки) и мозговое вещество (медулла), в котором количество лимфоцитов (в основном лимфобластов) снижено (более светлая часть дольки); *б* – мозговое вещество характеризуется присутствием телец Гассаля, представляющих собой округлые скопления эпителиальных клеток

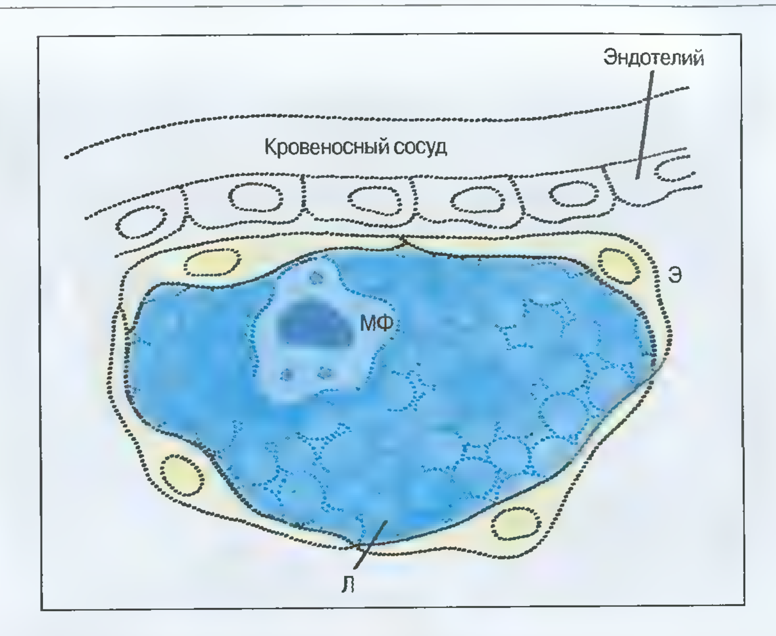


Рис. 2.7. **Схематическое изображение фолликула Кларка в корковом слое тимуса**

Элементарная структурно-гистологическая единица органа, представляющая собой плотное скопление лимфоцитов (Л), окруженных вытянутыми эпителиальными клетками (Э). Среди лимфоцитов фолликула имеются и макрофаги (МФ)

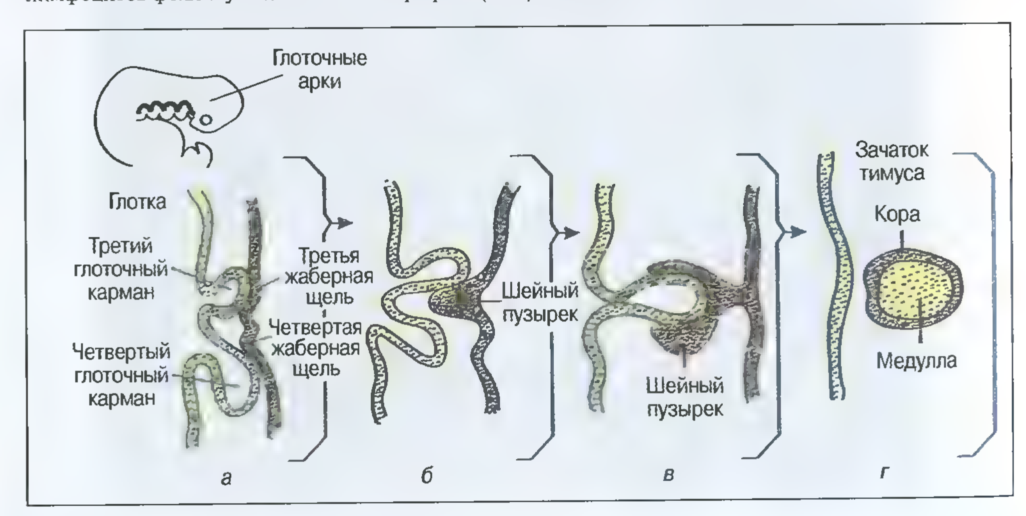


Рис. 2.8. **Закладка тимуса в эмбриогенезе у мышей**

а— два дискретных слоя эмбриональной ткани – эндодерма участка третьего глоточного кармана и эктодерма третьей жаберной щели, развиваясь, приходят в соприкосновение друг с другом; *б* – приблизительно с девятых суток развития эктодерма начинает разрастаться в месте контакта с эндодермой и постепенно захватывать эндодермальный вырост. В результате образуется морфологическая структура, получившая название шейного пузырька; *в* – эндо- и эктодермальные участки формирующегося зачатка тимуса еще не отделены от основных слоев; *г* – на заключительной стадии закладки тимуса (около одиннадцатого дня эмбриогенеза) эндо- и эктодермальные участки отделяются от основных тканевых слоев, образуя эпителиальный зачаток тимуса

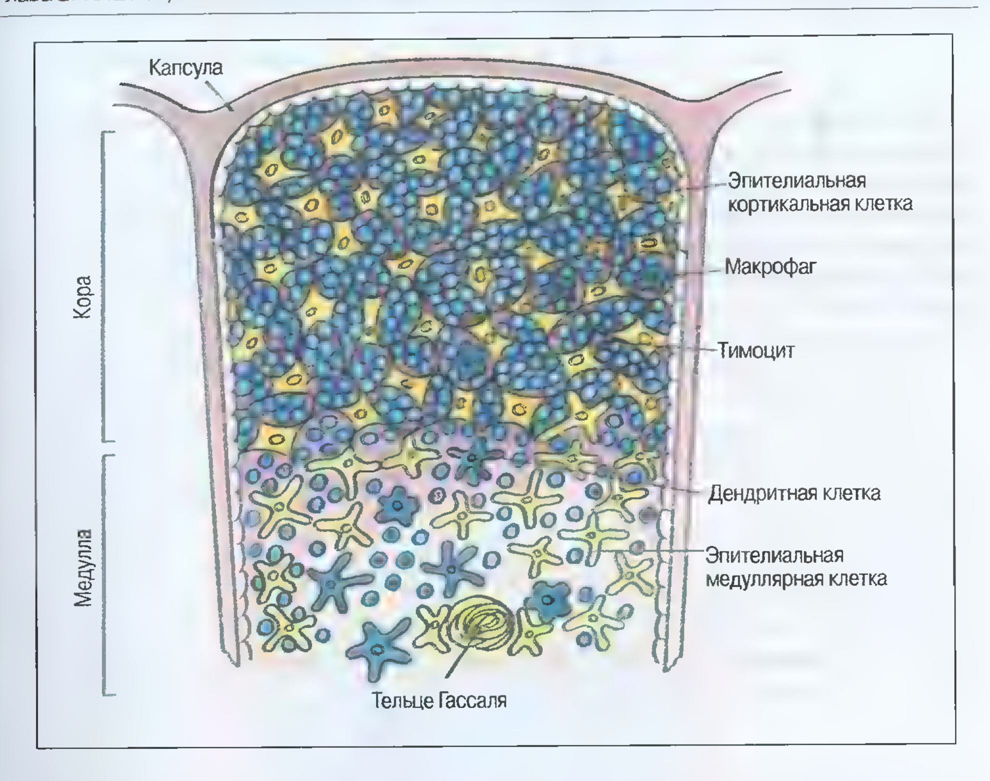


Рис. 2.9. Клеточный состав тимуса

Схематическое изображение дольки тимуса. Каждая долька представлена двумя дискретными участками: внешним корковым слоем (корой) и центральной медуллой. Кора состоит из плотно упакованных незрелых малых тимоцитов, локально окруженных разветвленными эпителиальными клетками эктодермального происхождения. Между тимоцитами коры и эпителиальными клетками наблюдается тесный контакт. Среди скоплений тимоцитов встречаются отдельные макрофаги. Как тимоциты, так и макрофаги имеют костномозговое происхождение. Тимоциты, окружающие их эпителиальные клетки и макрофаги образуют фолликул Кларка (см. рис. 2.7). Медулла состоит из зрелых бластных форм тимоцитов, макрофагов и дендритных клеток. Все эти типы клеток имеют мезенхимальное костномозговое происхождение. В то же время эпителиоциты медуллы относятся к клеткам эндодермального источника. В медуллярном слое наблюдаются обнаженные, практически свободные от тимоцитов участки с округлыми скоплениями эпителиальных клеток — так называемые тельца Гассаля. Их функция неизвестна

Сразу после образования зачатка тимуса начинается его колонизация клетками костного мозга. Помимо предшественников тимоцитов в орган мигрируют макрофаги и дендритные клетки. Все эти клетки имеют мезенхимное происхождение. Таким образом, тимус как самостоятельный орган формируется из трех зародышевых листков: экто-, мезо- и эндодермы (рис. 2.9).

Существенной особенностью клеток тимуса является их ярко выраженная пролиферативная активность и высокий процент гибели in situ. Сопоставление количества тимоцитов, покидающих тимус ($8{,}6 \cdot 10^6$ в сутки), с тем количеством, которое образуется вновь в то же самое время ($30 \cdot 10^7 = 47 \cdot 10^7$), показывает, что из тимуса выходит лишь 3% от всех вновь образованных клеток. Биологический смысл столь расточительного процесса связан с селекций клонов клеток, способных взаимодействоватть с собственными антигенами гистосовместимости (подробно см. гл. 4).

2. Заказ № 67.

2.1.3. Селезенка

Если костный мозг и тимус – центральные органы иммунитета, то селезенка, лимфатические узлы, лимфоидные образования кишечника, миндалины, аппендикс относятся к периферическим структурам. Они не являются местом, направляющим дифференцировку стволовых элементов по пути формирования Т- и В-клеточных популяций. В то же время периферические органы и ткани являются основными морфологическими образованиями, где развивается иммунный ответ.

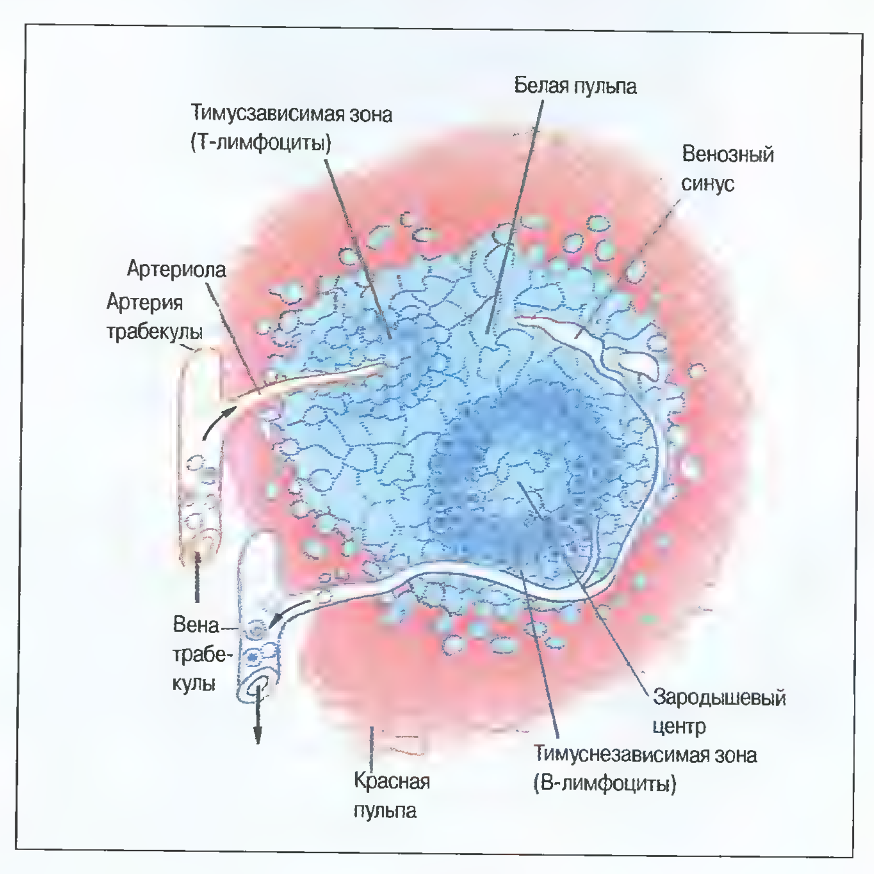


Рис. 2.10. Фрагмент селезенки

Паренхима органа включает белую и красную пульпы. Белая пульпа (мальпигиевы тельца) заселена Т- и В-лимфоцитами, которые мигрируют сюда из центральных органов иммунной системы (костного мозга и тимуса). Лимфоциты белой пульпы распределены по двум зонам: тимусзависимой, где вокруг пронизывающих пульпу артериол скапливаются Т-клетки, и тимуснезависимой – места локализации В-клеток. В этой зоне хорошо видны зародышевые центры (центры размножения), которые образуются в ответ на антигенный стимул. Красная пульпа представлена ретикулокапиллярными петлями, пространство между которыми заполнено свободными клеточными элементами. Большинство клеток красной пульпы представлено эритроцитами, что и определяет ее цвет

Формирование гуморального иммунного ответа в виде продукции специфических иммуноглобулинов связано главным образом с селезенкой – крупным органом, расположенным в верхней, левой части брюшины. Снаружи орган окружен соединительнотканной капсулой, от которой внутрь органа отходят поддерживающие перегородки – трабекулы. Характерной чертой строения селезенки является наличие двух гистологически хорошо различающихся участков – красной и белой пульпы (рис. 2.10). Белая пульпа (Мальпигиевы тельца) представляет собой скопление лимфоцитов вокруг эксцентрично расположенного артериального канала. Красная пульпа – место локализации большого количества эритроцитов, а также макрофагов, мегакариоцитов, гранулоцитов, перемещающихся сюда из белой пульпы лимфоцитов. Четких границ между белой и красной пульпой нет, и между этими двумя регионами происходит частичный клеточный обмен.

Для анализа иммунологических ситуаций наибольший интерес представляет белая пульпа и пограничные области между белой и красной пульпой. Именно здесь локализуются Т- и В-лимфоциты. Т-клетки располагаются вокруг артериол, образуя периартериальные муфты. В-клетки входят в состав зародышевых центров, которые, как правило, расположены в пограничной, маргинальной зоне. В красной пульпе также встречаются лимфоциты и плазмациты. Однако они не образуют в этой зоне морфологически оформленных скоплений. Лимфоцитами красной пульпы являются Т-клетки, покидающие селезенку через венозные синусы. Плазмациты этой зоны представляют собой те завершившие дифференцировку В-клетки, которые вышли из зародышевых центров.

В пренатальный период селезенка функционирует как смешанный лимфоэпителиальный орган с хорошо выраженным эритропоэзом. В постнатальный период эритро- и миелопоэтические процессы в селезенке млекопитающих постепенно затухают, хотя грызуны сохраняют их в течение всей жизни. Лимфоидная ткань в данном органе образуется еще до рождения. Однако существенно, что впервые лимфоциты появляются все-таки в тимусе и костном мозге и только вслед за этим в развивающейся селезенке.

Несмотря на то что селезенка у многих видов млекопитающих функционирует только как орган лимфопоэза, следует помнить, что это доминирующее свойство приобретается в постнатальный период жизни. В эмбриогенезе селезенка выступает в качестве смешанного лимфомиелоидного образования.

2.1.4. Лимфатические узлы

Лимфатические узлы так же, как и тимус, являются истинно лимфоидными образованиями. Они располагаются в виде зерен по ходу лимфатических сосудов. Размеры узлов у человека в условиях нормы колеблются от 3 до 30 мм. В эмбриогенезе лимфатические узлы возникают в конце второго–начале третьего месяца развития. Они образуются в результате накопления мезенхимных клеток вокруг кровеносных сосудов. Наружный слой мезенхимы дифференцируется в соединительнотканную капсулу, от которой внутрь узла отходят трабекулы–перегородки. Непосредственно под капсулой находится краевой синус, куда поступает лимфа по афферентным (приносящим) лимфатическим сосудам (рис. 2.11). Из краевого

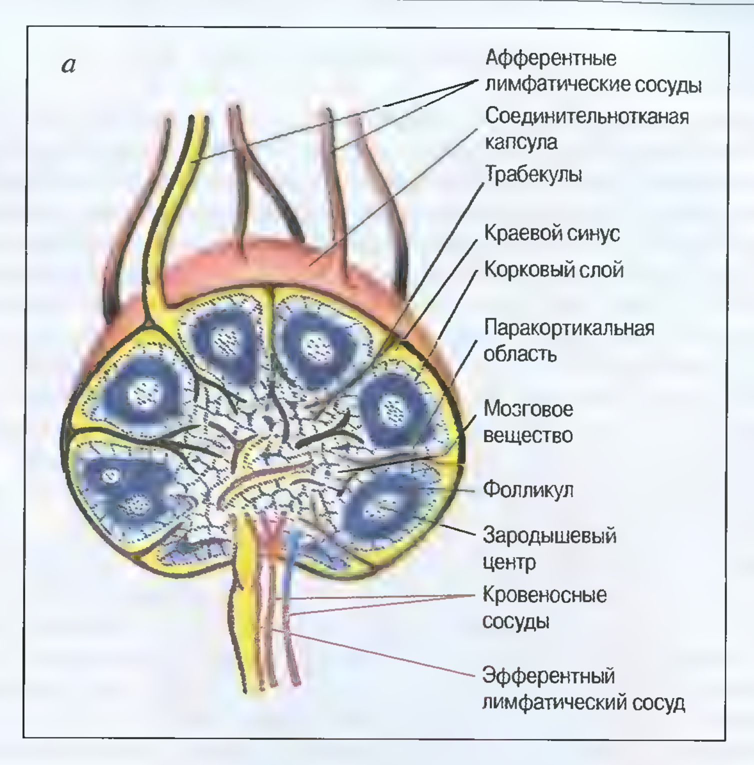


Рис. 2.11. Лимфатический узел

а – снаружи узел покрыт соединительнотканной капсулой. От капсулы в глубь узла отходят перегородки – трабекулы. Непосредственно под капсулой находится краевой синус, куда поступает лимфа, приносящая лимфоциты с периферии. Из краевого синуса лимфа с клетками проходит в промежуточные синусы, которые пронизывают всю толщу органа, и затем собирается в эфферентном (выносящем) сосуде. Место выхода сосуда называется воротами узла. Через ворота внутрь узла проходят кровеносные сосуды. Лимфоидная ткань узла делится на корковый слой (кору) и мозговое вещество (медуллу). Корковый слой характеризуется плотной упаковкой лимфоидных клеток, которые собраны в округлые скопления – первичные и вторичные фолликулы. Первичные фолликулы представляют собой естественные гистологические структуры органа. Вторичные фолликулы (зародышевые центры, центры размножения) отличаются наличием светлой центральной части, состоящей из активно пролиферирующих бластных клеток. Вторичные фолликулы образуются в ответ на проникновение в орган антигена;

синуса лимфа поступает в промежуточные синусы, пронизывающие всю толщу узла, и собирается в эфферентном (выносящем) лимфатическом сосуде, который в конце концов выносит ее в грудной проток. Место выхода сосуда называют воротами узла. Через ворота в узел проходят кровеносные сосуды.

Так же как и в тимусе, в лимфатическом узле различают корковый слой, расположенный по периферии и организованный в первичные и вторичные фолликулы, и мозговое вещество, находящееся в центре узла (рис. 2.11). Корковый слой узла – место концентрации В-клеток. Это так называемая тимуснезависимая или В-зона. Мозговое вещество представлено относительно слабо упакованными лимфоцитами, плазмацитами, свободными макрофагами и ретикулярными клет-

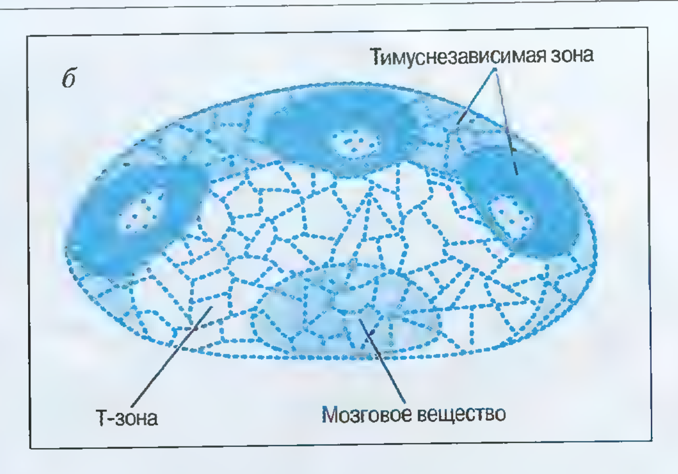


Рис. 2.11. Лимфатический узел (окончание)

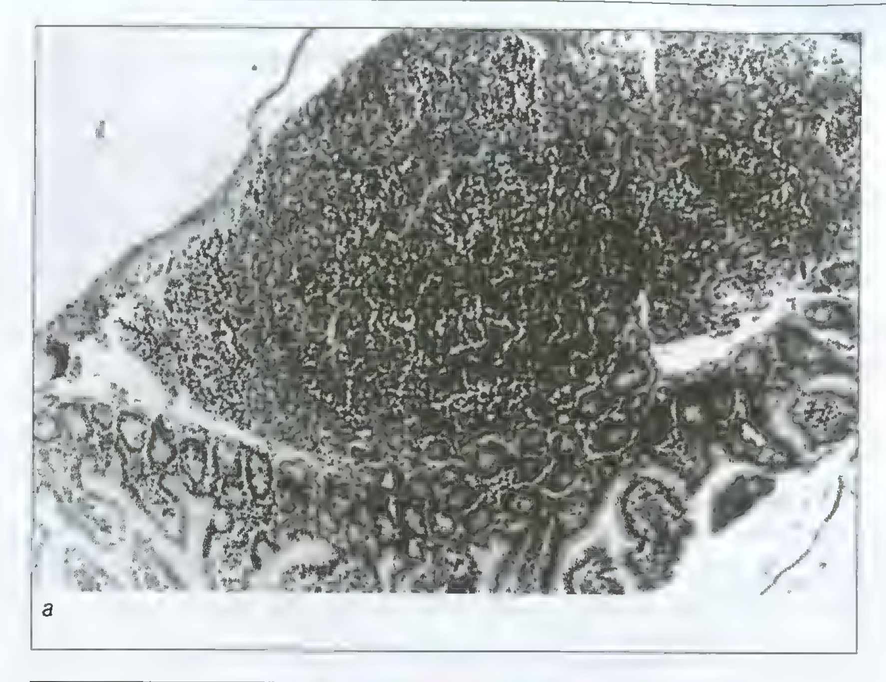
б – тимусзависимые и тимуснезависимые зоны в лимфатическом узле. Корковый слой лимфатического узла получил название тимуснезависимой зоны, или В-зоны, – места концентрации В-клеток, мигрирующих сюда из костного мозга. Территория узла, располагающаяся на границе между корой и медуллой (паракортикальная зона), называется тимусзависимой, или Т-зоной. Эта часть узла колонизирована Т-клетками, поступающими сюда из тимуса. При неонатальной тимэктомии Т-зона становится практически свободной от клеточных элементов. В то же время В-зона и медулла остаются без изменений. Данное экспериментальное наблюдение определило название зон

ками стромы. Область между корой и мозговым веществом (паракортикальная территория) – место концентрации Т-клеток. В силу этого область, занятая в основном Т-клетками, получила название тимусзависимой или Т-зоны. Т-лимфоциты этой зоны являются зрелыми тимуспроизводными клетками с ярко выраженной способностью к киллерной функции. На долю Т-клеток приходится 65%, а на долю В-клеток – около 28% от общего количества всех лимфоцитов узла.

В центрах размножения помимо В-лимфоцитов различной степени зрелости хорошо представлены дендритные клетки, входящие в состав стромы, и свободные макрофаги с выраженной фагоцитарной активностью. Подобная близость всех трех типов функционально зрелых клеток создает реальные условия для успешного их взаимодействия при развитии иммунного ответа.

2.1.5. Лимфоидная ткань, ассоциированная со слизистыми покровами

В дополнение к массе периферической лимфоидной ткани, инкапсулированной в селезенке и лимфатических узлах, организм содержит значительное количество «свободной», не заключенной в соединительнотканную капсулу лимфоидной ткани, которая локализуется в стенках желудочно-кишечного, респираторного и урогенитального трактов. Ее обозначают как лимфоидную ткань, ассоциированную со слизистыми покровами. Ткань представлена либо в виде диффузной инфильтрации, либо в форме узелковых скоплений, лишенных замкнутого соединительнотканного футляра.



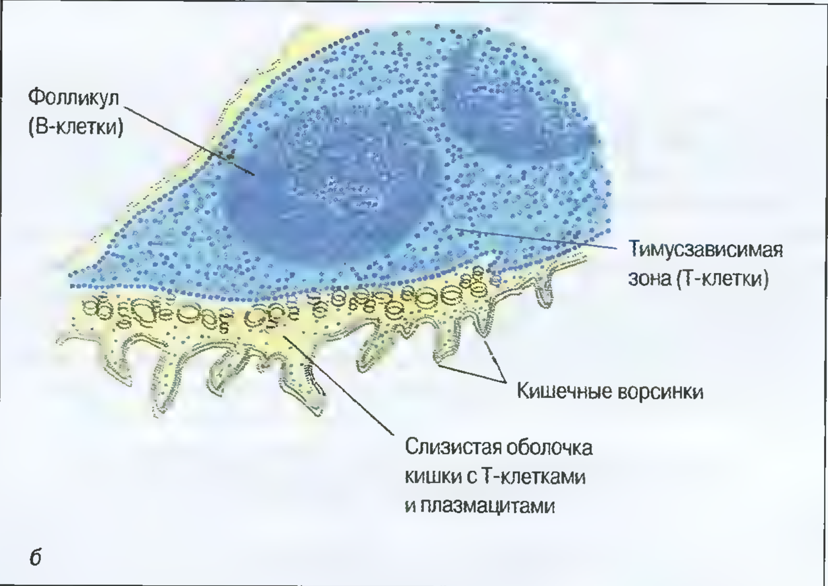


Рис. 2.12. Гистологическая картина пейеровой бляшки

а — гистологический срез через пейерову бляшку тонкого кишечника; *б* — схематическое изображение среза пейеровой бляшки. Пейеровы бляшки локализуются в подслизистой тонкого кишечника и не имеют в отличие от лимфатических узлов, селезенки или тимуса соединительнотканной капсулы. Лимфоциты этих тканевых структур представлены как В-, так и Т-клетками, которые концентрируются в соответствующих зонах. Кроме того, лимфоциты способны проникать в слизистую оболочку кишки в месте ее контакта с бляшкой. Плазмациты бляшек продуцируют в основном IgA

В тонком кишечнике такие узелки получили название *пейеровых бляшек.* Лимфоциты этих образований представлены как В-, так и Т-клетками. Среди В-клеток более 50% имеет поверхностный IgA. Оставшаяся часть представлена клетками с поверхностными IgM и IgG. Продуцирующие антитела плазмациты и Т-клетки способны проникать в слизистую оболочку кишки, находящуюся в прямом контакте с бляшками (рис. 2.12). Кроме того, в слизистой находятся фагоцитирующие клетки, которые поглощают патогены, оказавшиеся на эпителиальной слизистой поверхности кишечного просвета. Таким образом, пейеровы бляшки являются эффективным инструментом защиты от проникновения патогена через желудочно-кишечный тракт.

Близки по строению и функции *миндалины*, расположенные вдоль дыхательного тракта. Так же как и пейеровы бляшки, они не относятся к категории лимфоидных органов, поскольку не полностью инкапсулированы.

2.1.6. Сумка Фабрициуса птиц

Особое место в иммунологии занимает сумка Фабрициуса птиц. В середине 1960-х годов утвердилось мнение, что сумка выполняет роль центрального органа иммунитета, являясь поставщиком В-клеток для периферии. Были предприняты даже попытки найти аналогичный орган у млекопитающих, исключая костный мозг. Действительно, сумка Фабрициуса является местом активного образования антителопродуцентов. Однако исключительность этого органа для В-системы иммунитета не подтвердилась.

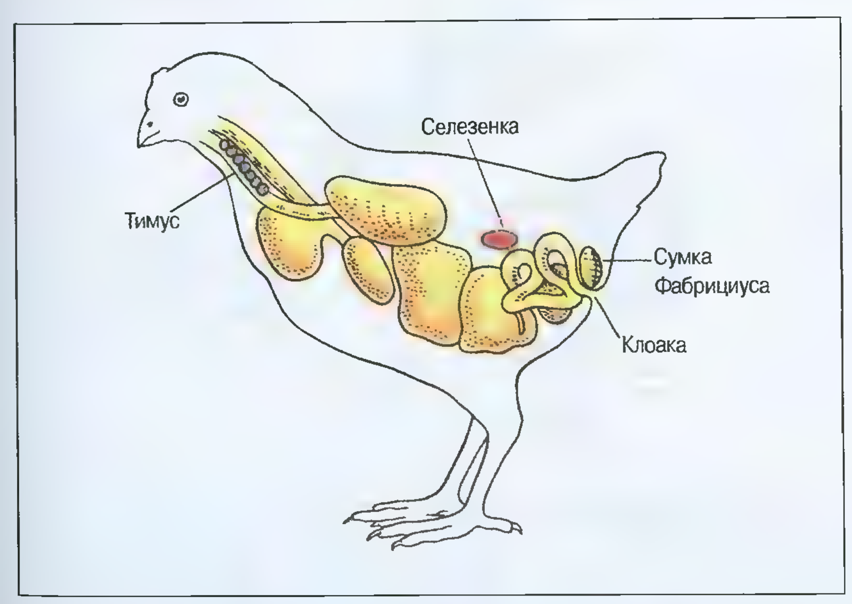


Рис. 2.13. Локализация сумки Фабрициуса у птиц

Сумка Фабрициуса – лимфоэпителиальный орган, расположенный в задней части клоаки у птиц. Орган характеризуется значительным накоплением В-клеток и плазмацитов

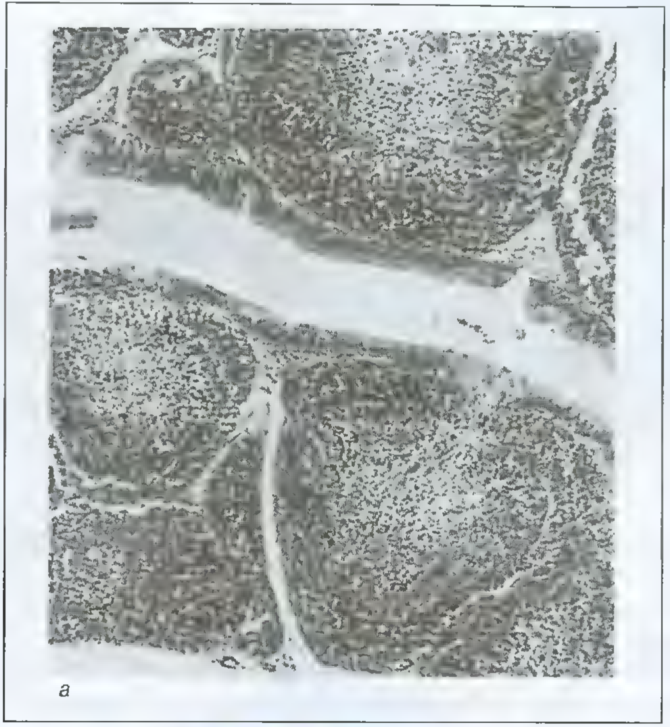




Рис. 2.14. Гистологическая картина сумки Фабрициуса

а – гистологический срез через сумку Фабрициуса; *б* – схематическое изображение среза сумки Фабрициуса. Просвет сумки выстлан цилиндрическим эпителием, подобным эпителию кишечника. Непосредственно за эпителиальным слоем располагаются узелки, общее строение которых напоминает строение соответствующих структур тимуса. Кора представлена в основном плотным скоплением малых лимфоцитов. Более светлое мозговое вещество включает лимфобласты, плазматические клетки, макрофаги, гранулоциты, ретикулярные клетки. Эпителиальные клетки образуют сеть, переходящую в эпителиальные покровы просвета органа. В отличие от тимуса в узелках сумки корковый слой отделен от медуллярного основной мембраной

Сумка Фабрициуса – лимфоэпителиальный орган, расположенный в задней части клоаки у птиц (рис. 2.13). Просвет сумки выстлан цилиндрическим эпителием, подобным эпителию кишечника. Непосредственно за эпителиальным слоем располагаются узелки (дольки), общее строение которых напоминает организацию долек тимуса. Кора представлена в основном плотным скоплением малых лимфоцитов. Более светлое мозговое вещество включает большие лимфоциты, плазматические клетки, макрофаги, гранулоциты, ретикулярные клетки. Эпителиальные клетки органа образуют сеть, переходящую в эпителиальные покровы просвета органа. В отличие от тимуса и других лимфоидных органов в узелках сумки корковый слой отделен от медуллярного основной мембраной (рис. 2.14).

2.2. Клетки лимфоидного и моноцитарно-макрофагального рядов

Клетки, принимающие участие в становлении и функционировании иммунной системы, можно разделить на две группы. Это – основные клетки лимфоидного комплекса: Т- и В-лимфоциты и их субпопуляции. Вторая группа – вспомогательные клетки иммунной системы: антигенпрезентирующие клетки (макрофаги, дендритные клетки, В-клетки), представляющие антиген в форме, доступной для его распознавания основными клетками системы, и стромальные клеточные элементы органов, где происходят процессы созревания (дифференцировки) основных клеток иммунной системы.

Несколько в стороне стоят НК-клетки (нормальные киллерные клетки) – большие бластные, гранулярные лимфоциты. Функционально они не относятся к клеточным элементам специфического иммунитета, поскольку у них нет основного инструмента, который позволил бы им войти в категорию специфических клеточных факторов иммунитета, – антигенраспознающих рецепторов. Их участие в иммунном процессе заключается в неспецифическом разрушении чужеродных клеток (некоторых опухолевых клеток, вирусинфицированных клеток, неродственных трансплантатов).

Основная помощь в делении лимфоцитов на отдельные типы (популяции) и субпопуляции пришла из анализа их поверхностных молекулярных структур (рецепторов, маркеров), определяемых с помощью моноклональных антител. Поскольку к отдельно взятой молекуле образуется несколько таких антител, выявляющих отличающиеся антигенные детерминанты одной и той же молекулы, и, более того, в разных лабораториях идентичные антитела получили различные обозначения, то решено было все обнаруженные антигенные специфичности одной молекулы объединить под общим названием CD-антигены с определенным порядковым номером. Свое обозначение они получили от английского словосочетания cluster designation. К настоящему времени известно более 150 таких кластеров. Изучая динамику появления CD-антигенов, удалось не только четко разделить все лимфоциты на определенные популяции и субпопуляции, но и проследить процессы дифференцировки лимфоцитов, изменение поверхностных

клеточных структур в результате выполнения той или иной функции и выявить предназначение самих CD-антигенов в процессах становления и развития клеточных участников иммунного ответа.

2.2.1. В-клетки

Как уже отмечалось, В-клетки – малые лимфоциты, проходят практически полностью весь путь своего развития в костном мозге. После прошедших дифференцировочных событий они покидают место основного развития и перемещаются в периферические лимфоидные органы, где заселяют так называемые В-зоны или Т-независимые зоны этих органов.

Периферические В-лимфоциты, потенциально способные к выполнению своей защитной функции – синтезу антител, представляют собой сферические клетки диаметром 7–9 мкм, с узкой каймой цитоплазмы, гетерохроматиновым furобовидным или округлым ядром, заполняющим практически весь объем клетки. Цитоплазматическая мембрана характеризуется наличием небольших выростов – микроворсинок (рис. 2.15).

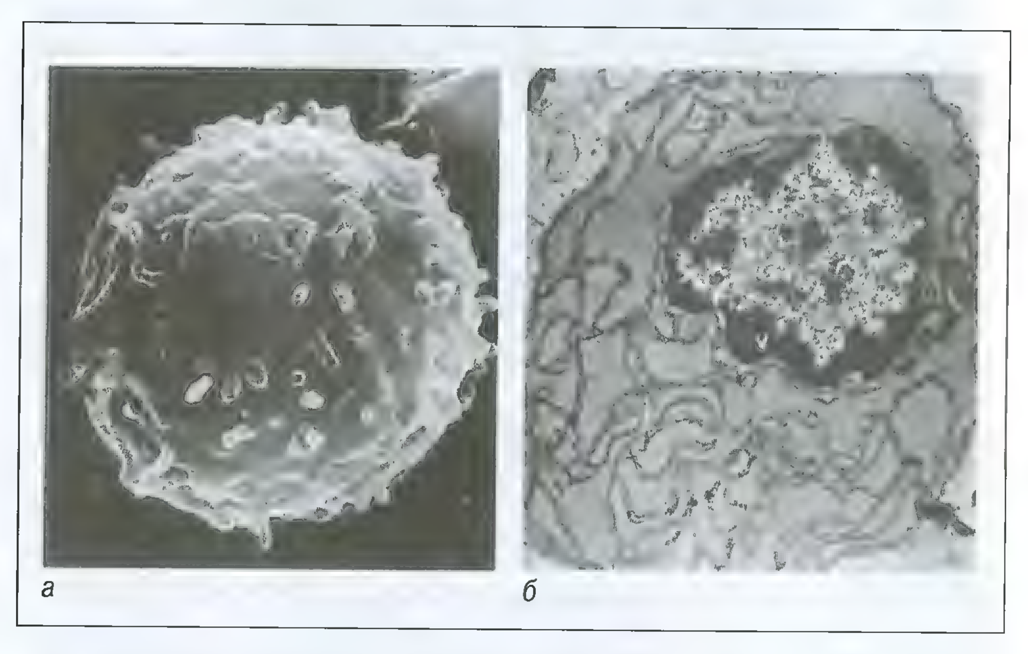


Рис. 2.15. Микрофотографии В-клетки и плазмацита (увел. 12 000)

а – микрофотография В-клетки периферической крови, полученная с помощью сканирующего электронного микроскопа. Видны выраженные выросты цитоплазмы – микроворсинки; *б* – микрофотография плазмацита, полученная с помощью трансмиссивного электронного микроскопа. В цитоплазме хорошо представлен шероховатый эндоплазматический ретикулум – показатель активного синтеза белка

Созревание и функция В-клеток неразрывно связаны с экспрессией на их поверхности самых разнообразных поверхностных молекул, которые обеспечивают им взаимодействие как с другими клетками, так и с лигандами, что и лежит в основе «жизненного обеспечения» этого типа клеток. В табл. 2.1 суммированы рецепторы и маркеры В-клеток и проведено сравнение с экспрессией этих поверхностных структур у других иммунологически значимых клеток. Особое внимание следует обратить на те поверхностные структуры, которые экспрессируются только на В-клетках. Это в первую очередь поверхностный, или мембранный, иммуноглобулин (sIg, или mIg). При наличии меченых антител к иммуноглобулину легко вычленить В-клетки из общей популяции лимфоцитов. sIg на мембране клетки связан с другими молекулярными структурами, образуя В-клеточный антигенраспознающий рецепторный комплекс (ВКР, или BCR от англ. B cell receptor). Среди них необходимо отметить CD79-α и -β, а также CD19, CD20, CD21 и др.

Таблица 2.1.

Экспрессии мембранных CD-антигенов В-клеток в сравнении с экспрессией этих антигенов у других иммунологически значимых клеток

В	Т	НК	МЦ/МФ	ДК	IgSF
SIg	–	–	–	–	+
CD79-α (Igα)	–	–	–	–	+
CD79-β (Igβ)	–	–	–	–	+
CD19	–	–	–	–	+
CD20	–	–	–	–	–
CD21 (CR2)	–	–	–	–	–
CD22	–	–	–	–	+
CD49c (VLA-3)	–	–	–	–	–
CD72 (CAM)	–	–	–	–	–
CD80	–	–	–	–	+
CD125 (IL-5R)	–	–	–	–	–
CD126 (IL-6R)	–	–	–	–	+
CD130	–	–	–	–	+
CD5	+	–	–	–	–
CD6	+	–	–	–	–
CD25 (IL-2R)	+	–	–	–	–
CD124 (IL-4R)	+	–	–	–	–
CD23 (FcεRII)	–	–	+	–	–
CD32 (FcγRII)	–	–	+	–	+
CD86	–	–	+	–	+
CD11b (CR3)	–	+	+	–	–
CD35 (CR1)	–	+	+	–	–
CD40	–	+	+	–	–

Таблица 2.1 (окончание).

В	Т	НК	МЦ/МФ	ДК	IgSF
CD121b (IL-1RII)	–	+	+	–	+
CD1c	+	–	–	+	+
CD31 (PECAN-1)	+	–	+	–	+
CD70	+	–	+	–	–
CD81	+	+	–	–	–
CD11a (LFA-1)	+	+	+	–	–
CD30	+	+	+	–	–
CD49b (VLA-2)	+	+	+	–	–
CD69	+	+	+	–	–
CD49d	+	–	+	+	–
CD45 (LCA)	+	+	+	+	–
CD48	+	+	+	+	+
CD54 (ICAM-1)	+	+	+	+	+
CD58 (LFA-3)	+	+	+	+	+

Примечание. В – В-клетки; Т – Т-клетки; НК – натуральные киллеры; МЦ/МФ – моноциты/макрофаги; ДК – дендритные клетки; IgSF – суперсемейство иммуноглобулинов.

Другая группа антигенов CD характеризуется более широкой клеточной экспрессией. Эти молекулярные структуры не только встречаются на В-клетках, но и участвуют в таких общих с другими клетками лимфомиелоидного комплекса процессах, как обеспечение дифференцировки, миграции и рециркуляции, костимуляции, клеточного взаимодействия и др.

2.2.2. Т-клетки

Т-клетки практически неотличимы по своей морфологии от В-лимфоцитов. Единственное, подчас трудно уловимое различие касается микроворсинок плазматической мембраны, которые у данного типа клеток выражены несколько слабее по сравнению с В-клетками и напоминают скорее небольшие вздутия цитоплазмы, чем собственно ворсинки.

Как и в случае с В-клетками, единственный достоверный способ отличить Т-клетки от остальных лимфоцитов состоит в регистрации на их поверхности маркеров и в первую очередь тех, которые специфичны только для данного типа лимфоцитов (табл. 2.2). Среди них главным является Т-клеточный антигенраспознающий рецептор (ТКР, или TCR от англ. T cell receptor), который совместно с дополнительными молекулярными структурами – корецепторами (CD3, CD4, CD8, CD45) – образует Т-клеточный антигенраспознающий комплекс.

Таблица 2.2.

Экспрессия мембранных CD-антигенов у Т-клеток в сравнении с экспрессией этих антигенов у других иммунологически значимых клеток

Т	НК	МЦ/МФ	В	ДК	IgSF
αβTCR	–	–	–	–	+
γδTCR	–	–	–	–	+
CD3 (γδεζη)	–	–	–	–	+
CD4	–	–	–	–	+
CD7	–	–	–	–	–
CD8	–	–	–	–	+
CD49 (VLA-1)	–	–	–	–	–
CD90 (Thy-1)	–	–	–	–	+
CD121a (IL-1R)	–	–	–	–	+
CD152 (CTLA)	–	–	–	–	+
CD154 (CD40L)	–	–	–	–	–
CD2 (LFA-3)	+	–	–	–	+
CD56 (NKH-1)	+	–	–	–	+
CD49e (VLA-5)	–	+	–	–	–
CD49f (VLA-6)	–	+	–	–	–
CD62L (L-селектин)	–	+	–	–	–
CD5	–	–	+	–	–
CD25 (IL-2R)	–	–	+	–	–
CD28	–	–	+	–	+
CD124 (IL-4R)	–	–	+	–	–
CD1a	–	–	–	+	+
CD1b	–	–	–	+	+
CD1d	–	–	–	+	+
CD1c	–	–	+	+	+
CD127 (IL-7R)	–	+	+	–	–
CD11a (LFA-1)	+	+	+	–	–
CD30	+	+	+	–	–
CD44 (Pgp-1)	+	+	+	–	–
CD50 (ICAM-3)	+	+	+	–	+
CD69	+	+	+	–	–
CD49d (VLA-4)	–	+	+	+	–
CD45 (LCA)	+	+	+	+	+
CD48	+	+	+	+	+
CD54 (ICAM-1)	+	+	+	+	+
CD58 (LFA-3)	+	+	+	+	+

Примечание. Обозначения те же, что в табл. 2.1.

Самые первые этапы дифференцировки Т-клеток совершаются в костном мозге. Здесь от общего лимфоидного предшественника происходит дивергенция развития по двум самостоятельным путям: В- и Т-клеточным направлениям. Однако если В-клетки для своего формирования почти полностью довольствуются микроокружением костномозговой ткани, то основным местом развития Т-клеток является тимус. На этом этапе дифференцировки в костном мозге ранние предшественники Т-клеток несут общие с тканью головного мозга антигены: Sca-1 и Sca-2, а также в малом количестве наиболее характерный антиген Т-клеток – CD90 (Thy-1). Основным антигеном, позволяющим обнаружить ранние предшественники Т-клеток, является Sca-1. Экспрессия антигена Thy-1 слишком слаба, чтобы быть надежным маркером при изучении процессов развития.

В тимусе как основном органе формирования фенотипически (но не функционально) зрелых Т-клеток осуществляются главные события, связанные с экспрессией на поверхности тимоцитов основного маркера-рецептора – ТКР, и сопутствующих ему белков, маркеров-корецепторов – CD4 и CD8 (молекул, определяющих деление Т-клеток на субпопуляции Т-хелперов и Т-киллеров соответственно). Кроме того, здесь же происходит усиление экспрессии маркера всех Т-клеток – антигена Thy-1. В тимусе в результате положительной и отрицательной селекции Т-клетки приобретают два существенных свойства: клональность – экспрессию отдельно взятой клеткой и ее потомством ТКР только одной определенной специфичности, и неспособность реагировать на собственные антигены за счет элиминации клеток, несущих ТКР к таким антигенам.

2.2.3. НК-клетки

Среди лимфоцитов периферии имеется популяция, получившая название НК-клеток (натуральные киллерные клетки). Характерной особенностью этих лимфоцитоподобных клеток является отсутствие у них структур, способных к специфическому распознаванию антигена, подобных тем, которыми обладают Т- и В-клетки. В то же время они, как и Т-киллеры, разрушают определенную категорию чужеродных клеток, но в отличие от последних неспецифическим образом. Способность к такому лизису объединяет их с активированными макрофагами. НК-клетки составляют в организме около 15% от всех лимфоцитов.

Наиболее характерными, функционально значимыми молекулами клеточной поверхности НК, обеспечивающими их контакт с чужеродными клетками и последующий лизис этих клеток-мишеней, являются CD56 (NKH1) – изоформа адгезивного белка NCAM, CD161 (NKR.P-1) и KAR (от англ. killer activation receptor) (табл. 2.3). Кроме этих рецепторов как специфических молекулярных структур NK имеются и такие, которые являются общими с другими клетками. Не обладая эффектом киллинга, они способствуют взаимодействию НК с клеткой-мишенью. К ним относятся CD16 (FcγRIII) – низкоаффинный рецептор К-клеток (субпопуляции NK), связывающий агрегированный IgG1 с IgG3. В реализации цитолиза в качестве вспомогательных структур участвуют также молекулы адгезии: CD11/CD18 (LFA-1, Mac-1, CR4), CD44, CD2 (LFA-2R) и др.

Таблица 2.3.

Экспрессия мембранных CD-антигенов у НК-клеток в сравнении с экспрессией этих антигенов у других иммунологически значимых клеток

НК	Т	В	МЦ/МФ	ДК	IgSF
CD158a (KIR)	–	–	–	–	+
CD158b (KIR)	–	–	–	–	+
CD158c (KIR)	–	–	–	–	+
CD2 (рецептор для LFA-2)	+	–	–	–	+
CD8αα	+	–	–	–	+
CD56 (NCAM)	+	–	–	–	+
CD94	+	–	–	–	–
CD161 (NKHP-1)	+	–	–	–	–
CD11b (CR3)	–	–	+	–	–
CD16 (FcγRIII)	–	–	+	–	+
CD122 (IL-2βR)	+	+	–	–	–
CD44 (Pgp-1)	+	+	+	–	–
CD49b (VLA-2)	+	+	+	–	–
CD50 (ICAM-3)	+	+	+	–	+
CD57 (HNK-1)	+	+	+	–	–
CD69	+	+	+	–	–
CD45 (LCA)	+	+	+	+	–
CD48	+	+	+	+	+
CD54 (ICAM-1)	+	+	+	+	+
CD58 (LFA-3)	+	+	+	+	+

Примечание. Обозначения те же, что в табл. 2.1.

Уникальным свойством НК является их способность быть инертными к собственным (аутологичным) клеточным антигенам гистосовместимости, сохраняя при этом агрессивность по отношению к клеткам, несущим гомологичные аллоантигены. В иммунологии это явление получило название «метка своего». Значение подобной дискриминационной функции состоит в контроле за возможными мутационными изменениями собственных антигенов. В таком контроле за неизменностью собственных антигенов, по крайней мере тех, которые относятся к молекулам I класса МНС, принимают участие структуры, относящиеся к суперсемейству иммуноглобулинов (см. главу 5). Среди них: NKB.1 (распознавание молекулы I класса HLA-B у человека), группа белков KIR (от англ. killer inhibitory receptor), которые распознают молекулы HLA-C. Белки группы KIR представлены несколькими изоформами, т.е. гены, контролируюшие их, образуют целые полигенные семейства. В каждой конкретной клетке экспрессируется только одна из возможных изоформ, что позволяет говорить об определенной клональной организации НК.

Гистогенез НК связан с развитием лимфоцитов вообще и Т-клеток в частности. Предполагается, что НК являются ответвлением от самых ранних этапов Т-клеточного пути дифференцировки в костном мозге. О близости между НК и Т-клетками говорит ряд фактов: наличие общих маркеров и ростстимулирующих факторов, присутствие предшественников НК в тимусе, функциональная идентичность по конечному результату – разрушение чужеродных клеток, наличие β-цепи Т-клеточного антигенраспознающего рецептора (ТКР) у НК. Незрелые, еще не начавшие экспрессию основных дифференцировочных маркеров-корецепторов CD4- и CD8-тимоциты ($CD4^-CD8^-$) эмбрионального тимуса, попадая в микроокружение селезенки, развиваются в НК-клетки. Из 24 маркеров CD у НК-клеток 5 являются общими только с Т-клетками. В категорию общих маркеров входит, с одной стороны, такой мажорный антиген НК, как CD56, а с другой – специфический антиген Т-киллеров CD8, представленный у НК в форме $CD8_{\alpha\alpha}$. Четыре из пяти общих антигенов относятся к суперсемейству иммуноглобулинов (см. табл. 2.3).

2.2.4. Макрофаги

Одной из многочисленных и широко распространенных в организме популяций клеток лимфомиелоидного комплекса является популяция макрофагов – фагоцитирующих мононуклеаров. Функции этих эволюционно наиболее древних клеток крайне разнообразны: участие в неспецифическом иммунном ответе (см. гл. 1) и в удалении отживших и разрушенных клеток собственного организма (функция мусорщика); участие в специфическом иммунном ответе в качестве презентирующей антиген клетки; выполнение функции цитотоксической клетки; продукция большого арсенала цитокинов и иных эндогенных соединений, регулирующих иммунный процесс.

Морфологически макрофаги хорошо охарактеризованы. Они представляют собой крупные полиморфные клетки диаметром 15–25 мкм (рис. 2.16), с ядром неправильной формы, имеющим тонко структурированный хроматин. Зрелые макрофаги делят на подвижные, мигрирующие в очаги воспаления, места тканевой деструкции, и резидентные, локализованные в отдельных органах и тканях. К резидентным макрофагам относятся: гистиоциты соединительной ткани, звездчатые ретикулоэндотелиоциты печени (купферовские клетки), альвеолярные макрофаги легких, макрофаги костного мозга, макрофаги селезенки и лимфатических узлов, клетки микроглии нервной системы.

Гистогенез макрофагов, как и других клеток лимфомиелоидного комплекса, начинается от стволовой кроветворной клетки костного мозга (рис. 2.5 и 2.17). Весь путь развития макрофагов проходит под влиянием клеточных и гуморальных факторов микроокружения. Первый этап дифференцировки приводит к образованию клетки-предшественницы для всех ростков миелоидного пути развития. На этом этапе действуют в первую очередь интерлейкин-3 (ИЛ-3) и гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (ГМ-КСФ). Эти же факторы оказывают влияние и на последующие этапы дифференцировки, приводящие к образованию общего предшественника макрофагов и гранулоцитов,



Рис. 2.16. Микрофотография группы макрофагов, поглотивших частицы латекса, полученная с помощью трансмиссивного электронного микроскопа (препарат В.М. Земскова и др.)

Вверху виден лимфоцит, контактирующий с макрофагом

монобластов, промоноцитов. При образовании моноцитов определенная роль принадлежит ИЛ-6. Костномозговой путь развития завершается образованием промоноцита, который, мигрируя в кровь, трансформируется в моноцит. В крови моноцит в качестве самостоятельной клетки существует около 2–6 ч, после чего он мигрирует в периферические органы, где через стадию незрелого макрофага завершает свой путь развития, превращаясь в зрелую, не способную к пролиферации форму.

Среди мембранных белков макрофаги в отличие от других клеток имеют рецепторы ко всем классам иммуноглобулинов (CD16, CD23, CD32, CD64). Важными для макрофагов как антигенпрезентирующих клеток являются корецепторы CD80 и CD86, хотя их полноценная экспрессия начинается только после стимуляции клеток. Два рецептора – CD11b/CD18 и CD11c/CD18 (последний рецептор в табл. 2.4 не отмечен) – существенны не только для связи с компонентами комплемента, но и для распознавания опсонизированных микробных и иных клеток, что приводит к эффективному их поглощению макрофагами. Для полноценной реализации своей основной функции – поглощения микробных

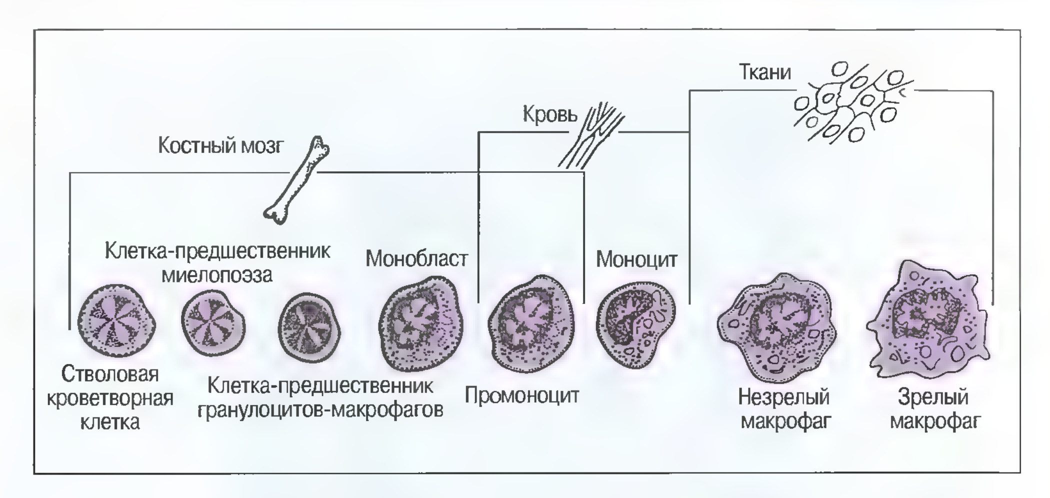


Рис. 2.17. Этапы созревания тканевого макрофага от стволовой кроветворной клетки костного мозга

Первые этапы дифференцировки происходят в костном мозге, где определяется линия развития в направлении макрофагального ростка. В крови основной представитель данной линии развития – моноцит. При его проникновении в паренхиму органов осуществляются завершающие этапы дифференцировки, которые приводят к формированию зрелого. не вступающего в пролиферацию тканевого макрофага

тел, важен также рецептор CD14, взаимодействующий с липополисахаридами бактерий. При взаимодействия с межклеточным матриксом и другими клетками макрофаги используют рецепторы, относящиеся к группе интегринов: например, CD11a/CD18, CD11b/CD18, CD49 и др.

Таблица 2.4.

Экспрессия мембранных CD-антигенов у моноцитов/макрофагов (МЦ/МФ) в сравнении с экспрессией этих антигенов у других иммунологически значимых клеток

МЦ/МФ	НК	Т	В	ДК	IgSF
CDw12	–	–	–	–	–
CD14	–	–	–	–	–
CDw17	–	–	–	–	–
CD33 (CAM)	–	–	–	–	+
CD36	–	–	–	–	–
CD64 (FcγRI)	–	–	–	–	+
CD11b	+	–	–	–	–
CD16 (FcγRIII)	+	–	–	–	+
CD49e (VLA-5)	–	+	–	–	–
CD49f (VLA-6)	–	+	–	–	–
CD62L	–	+	–	–	–
CD23 (FcεRII)	–	–	+	–	–

Таблица 2.4 (окончание).

МЦ/МФ	НК	Т	В	ДК	IgSF
CD32 (FcγRII)	–	–	+	–	+
CD49c (VLA-3)	–	–	+	–	–
CD86 (B7-2)	–	–	+	+	+
CD31 (PECAM-1)	–	+	+	–	+
CD49d (VLA-4)	–	+	+	–	–
CD35 (CR1)	+	–	+	–	–
CD40	+	–	+	–	–
CD11a (LFA-1)	+	+	+	–	–
CD44 (Pgp-1)	+	+	+	–	–
CB49b (VLA-2)	+	+	+	–	–
CD50 (ICAM-3)	+	+	+	–	+
CD69 (AIM)	+	+	+	–	–
CD45 (LCA)	+	+	+	+	–
CD48	+	+	+	+	+
CD54 (ICAM-1)	+	+	+	+	+
CD58 (LFA-3)	+	+	+	+	+

Примечание. Обозначения те же, что в табл. 2.1.

Являясь активными эффекторными и регуляторными клетками в проявлении как неспецифического, так и специфического иммунного ответа, макрофаги обладают также набором рецепторов к цитокинам и другим биологически активным соединениям, о чем будет изложено в соответствующих разделах.

2.2.5. Дендритные клетки

Значительная роль на начальных этапах формирования специфического иммунного ответа принадлежит дендритным клеткам, способным представлять антиген в иммуногенной форме и сохранять его для ускоренного развития вторичного иммунного ответа, т.е. выступать в качестве клеток, поддерживающих иммунологическую память.

Различают несколько типов дендритных клеток. Основными являются дендритные клетки тимуса, лимфатических узлов, слизистых оболочек, а также зародышевых центров – мест концентрации В-лимфоцитов в лимфоидной ткани. Предполагается, что клетки Лангерганса (белые отростчатые эпидермоциты) и вуалевые клетки лимфы представляют собой предшествующие, этапные формы дендритных клеток тимуса и лимфатических узлов. В то же время дендритные клетки зародышевых центров рассматриваются как самостоятельная субпопуляция, имеющая локальное происхождение.

Основной морфологической характеристикой всех дедритных клеток является наличие длинных выростов цитоплазмы (отсюда и название клеток – древовидный, ветвящийся). В строме лимфоидных органов эти клетки прочно фиксированы и окружены контактирующими с ними лимфоцитами.

Гистогенез дендритных клеток точно не охарактеризован. Ясно только то, что все дендритные клетки за возможным исключением фолликулярных дендритных клеток имеют костномозговое происхождение. При этом познание полного пути развития данного типа клеток требует дальнейшего внимательного изучения.

Как и другие клетки иммунной системы, дендритные клетки обладают набором поверхностных CD-структур. Однако среди них пока не обнаружено таких, которые были бы свойственны только данному клеточному типу (табл. 2.5).

Таблица 2.5.

Экспрессия мембранных CD-антигенов у дендритных клеток в сравнении с экспрессией этих антигенов у других иммунологически значимых клеток

ДК	МЦ/МФ	НК	Т	В	IgSF
CD1a	–	–	+	–	+
CD1b	–	–	+	–	+
CD1d	–	–	+	–	+
CD83	–	–	–	+	+
CD1c	–	–	+	+	+
CD74 (Ii)	+	–	–	+	–
CD101	+	–	+	–	+
CD49d	+	–	+	+	–
CD45 (LCA)	+	+	+	+	–
CD48	+	+	+	+	+
CD54 (ICAM-1)	+	+	+	+	+
CD58 (LFA-3)	+	+	+	+	+

Примечание. Обозначения те же, что и в табл. 2.1.

***

Клетки, ткани и органы иммунной системы входят в состав лимфомиелоидного комплекса. Комплекс включает костный мозг, тимус, селезенку, лимфатические узлы, лимфоидную ткань, ассоциированную с кишечником, соединительную ткань. Одна из определяющих функций комплекса состоит в обеспечении кроветворения (миелопоэза) и образования клеток иммунной системы (лимфопоэза). Клетки крови (эритроциты, мегакариоциты, гранулоциты, моноциты) и лимфоциты имеют общего родоначального предшественника – стволовую кроветворную клетку, локализованную в костном мозге. Однако на самом раннем

этапе костномозговой дифференцировки происходит дивергенция общего стволового элемента на стволовую клетку для миелопоэза и стволовую клетку для лимфопоэза. Именно с этого момента лимфоидная (иммунная) система вступает в самостоятельный ранг. Причем, подобная автономия не означает полного разрыва с другими функциональными системами организма. Объединяющим моментом является в первую очередь набор общих регуляторных молекул (цитокинов, гормонов, медиаторов нервной системы и т.д).

Широкое распространение по организму клеток лимфоидной системы роднит ее с кровеносной системой. «Оккупация» организма лимфоцитами проявляется в формах организации лимфоидной ткани: наличии диффузной инфильтрации лимфоцитами различных тканевых образований, скоплении лимфоцитов в слизистых покровах, разветвленной сети лимфатических узлов и соединяющих их сосудов.

Основные клетки иммунной системы – это Т- и В-лимфоциты, НК-клетки, макрофаги, дендритные клетки. Каждый из этих клеточных типов имеет свое, свойственное только ему сочетание поверхностных рецепторов и маркеров, что позволяет дифференцировать данные клетки не только морфологически, но и по особенностям экспрессии поверхностных молекул.

Глава 3. В-СИСТЕМА ИММУНИТЕТА

Гуморальный ответ в виде продукции антител (иммуноглобулинов) зависит от функционирования В-системы иммунитета. Центральным органом системы является костный мозг – основное место генерации В-клеток. Клеточный состав системы представлен В-лимфоцитами различной степени зрелости, вплоть до заключительной клеточной формы в гистогенезе этих клеток – плазмацита, активно синтезирующего и секретирующего специфические иммуноглобулины.

В процессе развития В-лимфоцитов в костном мозге происходит реорганизация генов для синтеза тяжелой и легкой цепей иммуноглобулинов. В результате такой реорганизации одна клетка синтезирует только одну по специфичности тяжелую и одну легкую цепи из множества возможных. Образующийся из такой клетки клон несет иммуноглобулиновый рецептор, способный реагировать только на один антигенный эпитоп. При этом клоны, экспрессирующие иммуноглобулиновые рецепторы к своим собственным антигенам, уничтожаются и не принимают участия в дальнейшем становлении системы. Создание толерантности к собственным антигенам осуществляется на территории костного мозга. В результате на периферии оказываются клетки, рецепторы которых реагируют только на чужеродные антигены.

В данной главе будет рассказано о структуре, функции и генетическом контроле как сывороточных (гуморальных) иммуноглобулинов, так и мембранных иммуноглобулинов, экспрессирующихся на поверхности В-клеток, о путях гистогенеза этих клеток в костном мозге, формировании гетерогенной популяции В-клеток периферии, создании В-клеточной толерантности к собственным антигенам.

3.1. Иммуноглобулины: структура, функция, генетический контроль

При анализе структуры и функции иммуноглобулинов следует различать два понятия: *гетерогенность* и *вариабельность*. Гетерогенность определяет свойства иммуноглобулинов, обусловленные константной (С) частью молекулы, т.е. теми структурными особенностями, которые позволяют делить всю группу этих белков на классы, подклассы, аллотипы и типы легких цепей. Гетерогенность подразумевает также различия в функциональной активности разных классов иммуноглобулинов за исключением их свойства специфического взаимодействия с антигеном. Вариабельность — это индивидуальная характеристика иммуноглобулинов, относящихся к одному и тому же классу или подклассу. Она проявляется в специфической антигенсвязующей активности и обусловлена меняющейся от белка к белку последовательностью аминокислотных остатков в N-концевой части молекулы. Два свойства иммуноглобулинов — гетерогенность и вариабельность — определяют функциональный дуализм данной группы белковых молекул (рис. 3.1).

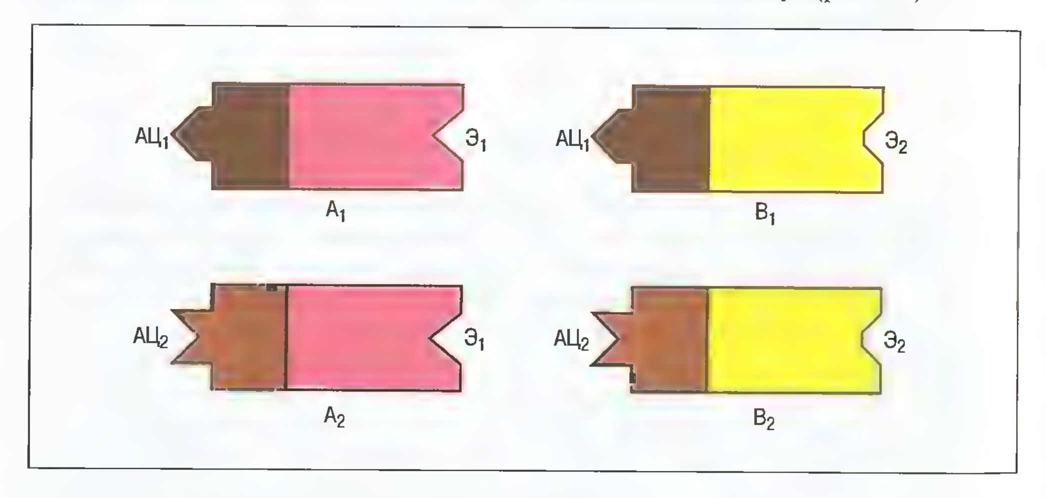


Рис. 3.1. Функциональный дуализм иммуноглобулинов

Каждая иммуноглобулиновая молекула имеет активный (антигенсвязующий) центр (АЦ) и участок, не связанный с основным антигенраспознающим свойством антител, но выполняющий эффекторные, физиологические функции (Э). Две молекулы иммуноглобулина ($А_1$ и $В_1$), распознающие тот же самый антиген, могут проявлять разную физиологическую активность. В то же время иммуноглобулины ($А_1$ и $А_2$), специфичные к разным антигенам, в физиологическом отношении могут быть идентичными

3.1.1. Общий план строения иммуноглобулинов

Для получения информации о строении и молекулярных основах специфичности антител необходимо было иметь значительное количество полностью идентичных иммуноглобулинов. Исследования с сывороточными антителами от нормальных доноров не давали такой возможности, так как подобные антитела,

являясь производными нескольких клеточных клонов, могли варьировать по тонкой специфичности антигенсвязующего центра и, кроме того, относиться к различным классам иммуноглобулинов. Необходима была экспериментальная мо-

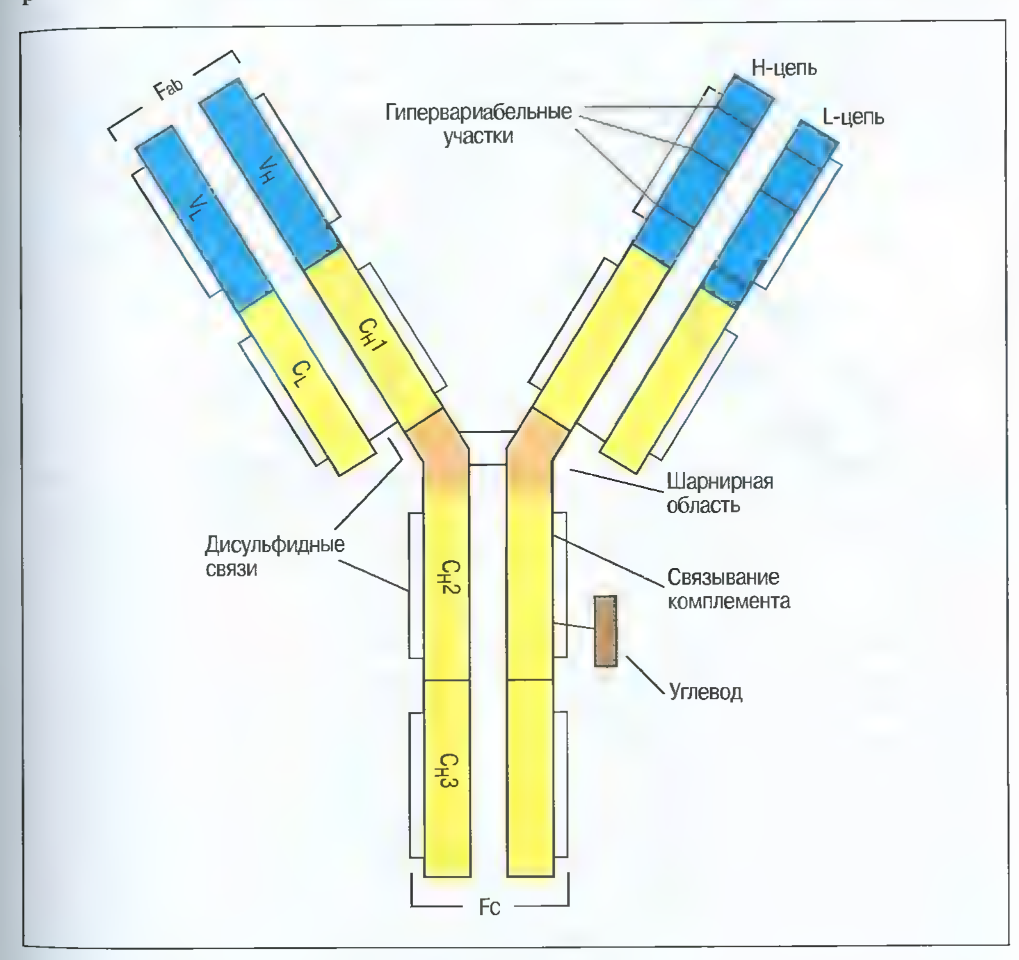


Рис. 3.2. Структура иммуноглобулина G

Иммуноглобулин G содержит две тяжелые (H) цепи с молекулярной массой 50 кДа и две легкие (L) цепи с молекулярной массой 25 кДа, которые объединены в единую молекулу с помощью ковалентных дисульфидных связей –S–S– (сплошные линии). Каждая цепь содержит вариабельную область (V_L и V_H для L- и H-цепей соответственно) и константную (C) область, подразделяющуюся у H-цепей на гомологичные участки (домены): C_H1, C_H2. C_H3. L-цепь имеет один константный участок – C_L. От взаимодействия V_H- и V_L-областей зависит специфичность иммуноглобулинов как антител. В аминокислотной последовательности V-доменов имеются положения, характеризующиеся частой заменой аминокислот от белка к белку (гипервариабельные участки), и более консервативные положения. Между C_H1- и C_H2-доменами H-цепи находится шарнирная область, от которой зависит подвижность Fab-фрагмента. C_H2-домен является местом присоединения углеводов и связывания комплемента. C_H3-домен взаимодействует с Fc-рецептором на поверхности клеток, принимающих участие в иммунологических реакциях

дель, позволяющая работать с иммуноглобулинами, продуцируемыми одним клоном клеток и в силу этого представляющими собой полностью идентичные молекулы. Такой моделью являются злокачественно трансформированные плазматические клетки больных миеломой. Больные данной формой рака имеют около 95% иммуноглобулинов сыворотки крови, относящихся к одному клону — потомству одной исходной клетки. К клональным белкам относятся и белки Бенс-Джонса, названные по имени первооткрывателя. Эти белки представляют собой димеры легких цепей иммуноглобулинов (L—L-цепи). Они обнаруживаются в большом

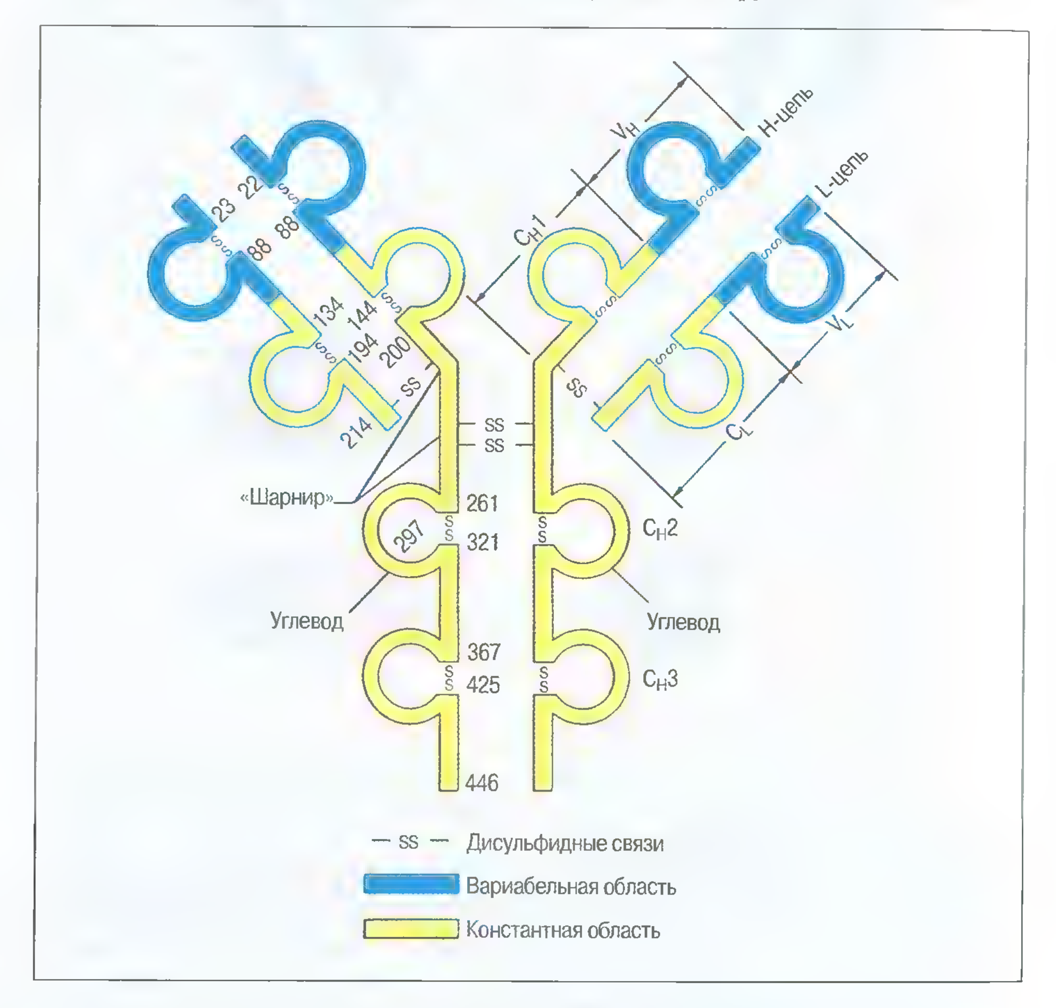


Рис. 3.3. Принцип доменной организации иммуноглобулинов

Представлена схема доменной организации IgG. Каждый домен включает приблизительно 100–110 аминокислотных остатков. Около 60 остатков оказываются заключенными в петлю дисульфидной связью –S–S–. По 20 аминокислотных остатков, не входящих в замкнутую часть домена, служат для соединения с соседними доменами. Цифры обозначают последовательность аминокислотных остатков в полипептидах

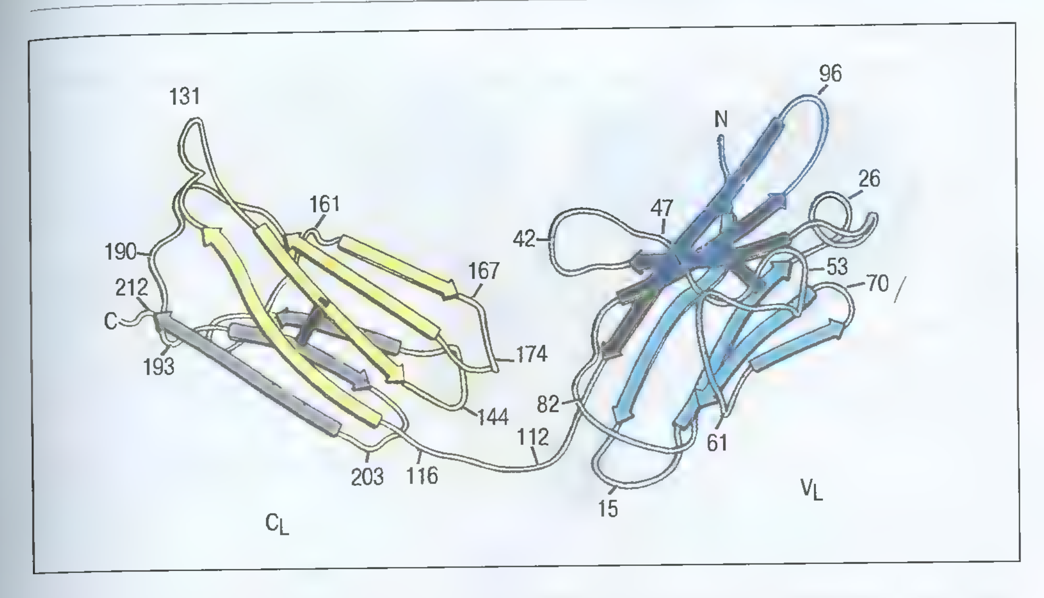


Рис. 3.4. Структурная организация легкой цепи (V_L- и C_L-доменов)

Организация доменов воспроизведена на основании данных рентгеноструктурного анализа. Стрелки показывают участки с антипараллельной β-структурой трехсегментного и четырехсегментного слоев. Цифрами обозначены положения аминокислотных остатков. Черные линии – дисульфидное соединение

количестве в моче больных миеломой и также являются удобным объектом для секвенирования. У мышей можно индуцировать миелому минеральными маслами. Существует большой набор клонированных плазмацитов, продуцирующих соответствующие миеломные белки – иммуноглобулины. Эти линии клеток получили название MOPC's (от англ. mineral oil induction plasmacytome cells).

Изучение полной аминокислотной последовательности различных миеломных белков выявило принципиальные особенности в строении иммуноглобулинов. Иммуноглобулины разных классов характеризуются общим планом строения. На рис. 3.2 представлена схема организации IgG. Этот иммуноглобулин содержит две тяжелые (H) и две легкие (L) цепи, которые объединены в четырехцепочечную молекулу посредством ковалентных, межцепьевых, дисульфидных связей (–S–S–). Каждая цепь включает вариабельную область (соответственно V_L и V_H для V- и H-цепей), от которой зависит специфичность иммуноглобулинов как антител, и константную (C), подразделяющуюся на гомологичные участки: C_H1, C_H2, C_H3. L-цепь имеет один константный участок (C_L). Между C_H1 и C_H2 расположена так называемая *шарнирная* область, обогащенная пролиновыми остатками. Повышенное содержание пролина в данной области обеспечивает конформационную гибкость молекулы, что необходимо для более успешного взаимодействия с антигенными детерминантами, представленными на поверхности чужеродных клеток, включая бактериальные частицы.

Впервые в 1969 г., еще до получения рентгеноструктурных данных, Дж. Эдельман предположил, что каждый гомологичный участок организован в замкнутую

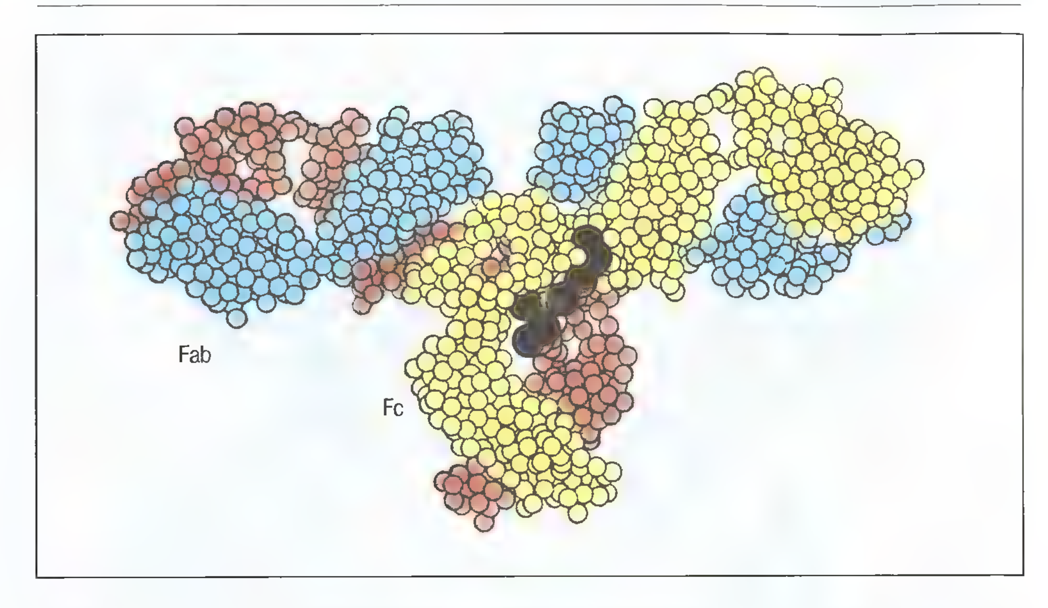


Рис. 3.5. Трехмерная структура иммуноглобулина G человека

Оранжевые и коричневые кружки обозначают тяжелые цепи; голубые — легкие цепи; черные кружки — углеводы

сферу — *домен*, за счет внутрицепьевых дисульфидных связей, образующихся полуцистеиновыми остатками. Дисульфидная связь замыкает в петлю около 60 аминокислот. Приблизительно по 20 аминокислот, не входящих в замкнутую часть участка, служат для взаимодействия с соседними доменами (рис. 3.3). Рентгеноструктурный анализ подтвердил общий принцип доменной организации полипептидных цепей иммуноглобулинов и вскрыл ряд тонких деталей строения. На рис. 3.4 представлено схематическое изображение пространственной организации V- и С-доменов легкой цепи. Домен состоит из двух слоев с β-складчатой структурой, один из которых построен из четырех антипараллельных сегментов, а второй — из трех сегментов. Слои ковалентно связаны дисульфидным мостиком примерно в середине домена. Общая пространственная организация IgG человека представлена на рис. 3.5. Видно, что тяжелые и легкие цепи, взаимодействуя друг с другом, образуют плотно упакованную структуру с тремя частями: два Fab-фрагмента и один Fc-фрагмент.

3.1.2. Гетерогенность иммуноглобулинов

Принадлежность иммуноглобулинов к тому или иному классу и подклассу зависит от характерных особенностей строения константной (С) области Н-цепи (количества и последовательности аминокислотных остатков, молекулярной массы, количества доменов и межцепьевых дисульфидных мостиков, связывания олигосахаридов и других свойств). Классы и подклассы иммуноглобулинов с обозначением тяжелых и легких цепей, а также ряда их биологических свойств представлены на рис 3.6 и в табл. 3.1.

Таблица 3.1.

Основные физико-химические и биологические свойства иммуноглобулинов человека

Свойство	IgM	IgG	IgA	IgD	IgE
Молекулярная форма	Пентамер	Мономер	Мономер, димер и т.д.	Мономер	Мономер
Обозначение:					
H-цепи	μ	γ	α	δ	ε
L-цепи	κ или λ	κ или λ	κ или λ	κ или λ	κ или λ
Молекулярная формула	$(\kappa_2\mu_2)_5$ $(\lambda_2\mu_2)_5$	$\kappa_2\gamma_2$ $\lambda_2\gamma_2$	$(\kappa_2\alpha_2)_n$ $(\lambda_2\alpha_2)_n$	$\kappa_2\delta_2$ $\lambda_2\delta_2$	$\kappa_2\varepsilon_2$ $\lambda_2\varepsilon_2$
Дополнительные цепи	J-цепь	–	J-цепь, секреторный компонент	–	–
Подклассы	–	IgG1, IgG2, IgG3, IgG4	IgA1, IgA2	–	–
Подклассы H-цепей	–	γ1, γ2, γ3, γ4	α1, α2	–	–
Аллотипы H-цепей	Mm(2)	Gm (около 20)	Am (2)	–	–
Количество доменов H-цепи	5	4	4	4	5
Молекулярная масса	950 000	150 000	160 000	175 000	190 000
Валентность антител	5 или 10	2	2	?	?
Коэффициент седиментации (S)	19S	6, 6S	7S, 9S, 11S, 14S	7S	8S
Содержание углеводов, %	10	3	7	9	13
Концентрация в сыворотке, мг/100 мл	125±50	1250±300	210±50	4	0,03
Процент от общего количества	5–10	75–85	7–15	0,3	0,003
Период полураспада, дни	5,1	23	5,8	2,8	2,5
Скорость синтеза, мг/кг в день	6,7	33	24	0,4	0,016
Парапротеинемия	Макроглобулинемия	Миелома	Миелома	Миелома	Миелома
Агглютинирующая активность	100	1	–	–	–
Фиксация комплемента	+	+(IgG1, 2, 3)	–	–	–
Активация комплемента (альтернативный путь)	–	+(IgG4)	+(IgA1, 2)	+	–

Таблица 3.1 (окончание).

Свойство	IgM	IgG	IgA	IgD	IgE
Цитофильность к					
макрофагам	–	+	–	–	–
лимфоцитам	–	+	–	–	+
К-клеткам	+	+	–	–	–
нейтрофилам	–	+	+	–	–
моноцитам	–	+	–	–	–
тучным клеткам	–	+	–	–	+
Другие биологические свойства	Первичный иммунный ответ; ревматоидный фактор	Вторичный иммунный ответ; перенос через плаценту	Характерные антитела в секретах	Основная молекула поверхности лимфоцитов	Гомоцитотропные антитела; анафилаксия; аллергия

Классы и подклассы	Тип цепи H	Тип цепи L
IgG1	γ_1	κ, λ
IgG2	γ_2	κ, λ
IgG3 (3)	γ_3	κ, λ
IgG4	γ_4	κ, λ
IgA1 (n)	α_1	κ, λ
IgA2 (n)	α_2	κ, λ
IgD	δ	κ, λ
IgE	ε	κ, λ
IgM (5)	μ	κ, λ

Рис. 3.6. Классы и подклассы иммуноглобулинов у человека

Принадлежность иммуноглобулина к тому или иному классу и подклассу зависит от характерных особенностей строения тяжелых (H) цепей (количества и последовательности аминокислотных остатков, молекулярной массы, количества доменов, межцепьевых дисульфидных мостиков, связывания углеводов и др.). Легкие цепи имеют только два типа – κ и λ. Тяжелые цепи независимо от принадлежности к тому или иному классу или подклассу образуют комплекс либо с κ-, либо с λ-типом. У IgA2 легкие цепи не вступают в ковалентную связь –S–S– с тяжелыми цепями, но имеют ее между собой

Иммуноглобулин М (IgM). Из всех иммуноглобулинов IgM организован наиболее сложно и имеет наибольшую молекулярную массу – 950 кДа. Он состоит из пяти мономеров, каждый из которых включает две тяжелые (μ-цепи) и две легкие цепи (κ- или λ-типов). Мономеры объединены в единую пентамерную молекулу дисульфидными связями (–S–S–) и J-цепью. Пять мономерных субъединиц расположены радиально. При этом Fc-фрагменты направлены в центр круга, а Fab-фрагменты – кнаружи (рис. 3.7). В состав μ-цепи входят четыре С-домена (Cμ1, Cμ2, Cμ3 и Cμ4), но при этом в структуре тяжелой цепи отсутствует шарнирный участок. В какой-то степени его функцию выполняет Cμ2-домен, имеющий остатки пролина. Предполагается, что именно этот домен явился эволюционным предшественником шарнирной области γ- и α-цепей IgG и IgA соответственно.

Реконструкция IgM, по данным рентгеноструктурного анализа (рис 3.7), демонстрирует гибкость Fab-фрагмента за счет остатков пролина Cμ2, что позволяет «находить» соответствующие антигенные детерминанты на поверхности антигенпредставляющей или бактериальной клетки.

Предпоследний остаток цистеина в хвостовом С-концевом отрезке, содержащем 18 аминокислотных остатков, очевидно, необходим для полимеризации мономеров в пентамер с помощью J-цепи.

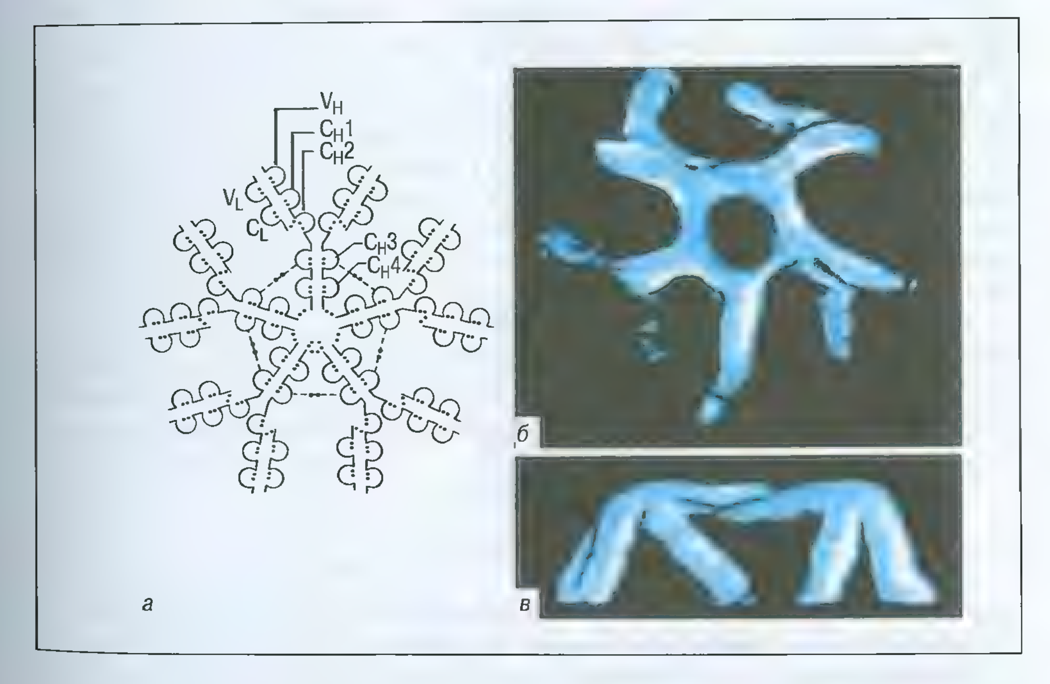


Рис. 3.7. Структура иммуноглобулина М

а – молекула иммуноглобулина М состоит из пяти мономеров, каждый из которых включает четыре полипептидные цепи (две Н-цепи и две L-цепи). Мономеры объединены в единую пентамерную молекулу дисульфидными связями –S–S– и J-цепью. Пунктир означает дисульфидные связи; *б* и *в* – модель иммуноглобулина М, построенная на основании данных рентгеноструктурного анализа. Видна гибкость Fab-фрагментов, позволяющая им «находить» соответствующие пространственно удаленные антигенные детерминанты

Каждая μ-цепь имеет по пять олигосахаридов: один – в Cμ1, три – в Cμ3 и один – в хвостовой части.

Помимо пентамерной, свободной формы IgM имеется мономерная форма этого иммуноглобулина, которая представлена на поверхности В-клеток и выполняет функцию антигенраспознающего рецептора. В процессе гуморального иммунного ответа наиболее ранние антитела относятся к IgM-классу. Они же первыми появляются в онто- и филогенезе. Наибольшую активность IgM проявляет в антибактериальном иммунитете и при некоторых аутоиммунных заболеваниях.

Иммуноглобулин G (IgG). Среди всех классов иммуноглобулинов в количественном отношении доминирует IgG. В сыворотке млекопитающих он составляет около 75% от общего количества этих белков. Отдельная молекула включает две тяжелые γ-цепи и две легкие: κ- или λ-типов. Молекулярная масса IgG составляет приблизительно 150 кДа. У человека и мыши описаны по четыре подкласса IgG, которые впервые были обнаружены серологическими методами. Тяжелые цепи этих подклассов обозначаются как γ1, γ2, γ3 и γ4. Порядковый номер указывает на количественное содержание каждого подкласса в сыворотке: в наибольшем количестве представлен IgGγ1, в наименьшем – IgGγ4. Степень гомологии между разными подклассами человека высока и составляет 90–95%. Различия связаны в основном с шарнирной областью, хотя в С-доменах также встречаются отдельные аминокислотные замены.

Шарнирная область характеризуется значительным числом остатков пролина и цистеина, что определяет ее гибкость. Количество дисульфидных связей этой части молекулы варьирует от одного подкласса к другому. Так, в γ1- и γ4-цепях таких связей две, в γ2-цепях – четыре, а в γ3-цепях – одиннадцать. Именно связи –S–S– обеспечивают взаимодействие двух тяжелых цепей. В γ1-цепи шарнирная область начинается с 216-го остатка и заканчивается 231-м. В то же время шарнирная область γ3-цепи на 47 остатков больше по сравнению с γ1-цепью. Изучение аминокислотной последовательности позволяет предположить, что это увеличение остатков связано с тандемной дупликацией участка 216–231 γ1-цепи. Существенной особенностью шарнирной области является возникающая в результате взаимодействия двух тяжелых цепей жесткая, циклическая октапептидная структура:

```
–Cys–Pro–Pro–Cys–
   |           |
–Cys–Pro–Pro–Cys–
```

Она служит осью вращения всей гибкой шарнирной области, а следовательно, и Fab-фрагментов, что необходимо, вероятно, для взаимодействия с антигеном.

Гомология между γ-цепями мыши, относящимися, как и у человека, к четырем подклассам, меньше и составляет 60–70%.

Биологическая роль IgG разнообразна. Это – и антибактериальная защита через механизм комплементзависимого лизиса микробной клетки, и проникновение через плаценту с той же защитной для развивающегося зародыша функцией, и «армирование» макрофагов (цитофильность к макрофагам), в результате чего

они становятся цитотоксическими для трансплантатов и опухолей, и участие в повышенной реактивности аллергического типа.

Иммуноглобулин А (IgA). Доминирующим иммуноглобулином секретов организма (слюны, пищеварительного сока, выделений слизистой носа и молочной железы) является IgA. В сыворотке крови его содержание незначительно и составляет всего 10–15% от общего количества всех иммуноглобулинов. Мономерная форма IgA построена по классическому типу. Тяжелая цепь включает V-область, три домена С-области и шарнирный участок. У человека известно два подкласса этого иммуноглобулина: IgA1 и IgA2. Соответствующее обозначение тяжелых цепей: α1 и α2. Без учета шарнирного участка степень гомологии между цепями α1 и α2 очень высока и составляет около 95%. Кроме того, подкласс IgA2 имеет два аллельных варианта – аллотипы A2m(1) и A2m(2).

За исключением шарнирного участка различия между подклассами IgA1 и IgA2 касаются 14 положений аминокислотных остатков в С-областях тяжелых цепей. При этом различия между аллотипами A2m(1) и A2m(2) в этих положениях отсутствуют, но они представлены в других участках тяжелых цепей, вблизи шарнирного участка. Именно эти положения определяют серологически выявляемые различия между аллотипами.

Структурными особенностями IgA являются наличие в молекуле J-цепи и секреторного компонента (рис. 3.8). J-цепь, как и у IgM, служит для полимеризации молекулы. Молекулярная масса цепи незначительна и составляет около 15 кДа. Данный полипептид не имеет гомологии с иммуноглобулинами, а кодирующий его ген локализован в хромосоме, не содержащей генов иммуноглобулинов. На заключительном этапе синтеза J-цепь взаимодействует с COOH-концевым участком тяжелой цепи через дисульфидные связи. В результате образуются полимерные формы IgA, представляющие собой в основном димеры, хотя в незначительном количестве имеются и мультимерные молекулы, включающие три мономера и более.

Для IgA, представленного в секретах, характерно наличие секреторного компонента. Он состоит из нескольких родственных в антигенном отношении полипептидов и экспрессируется на поверхности эпителиальных клеток.

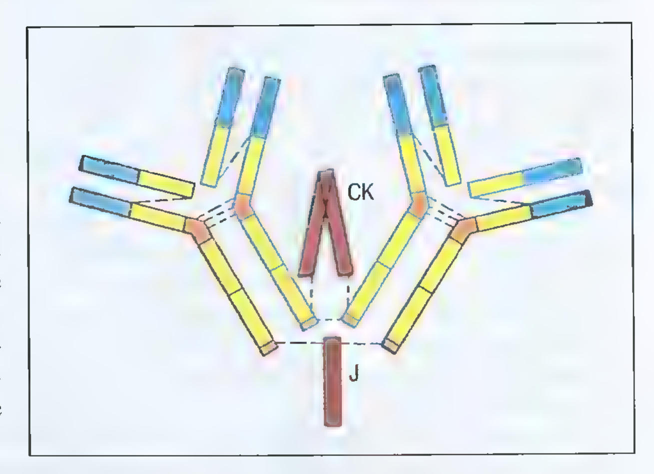


Рис. 3.8. Строение секреторного иммуноглобулина А

Общий план строения молекулы IgA соответствует другим иммуноглобулинам. Димерная форма образуется посредством ковалентной связи между J-цепью (J) и аминокислотами С-конца тяжелой цепи. В процессе транспорта IgA через эпителиальные клетки к молекуле присоединяется секреторный компонент (СК), защищающий иммуноглобулин от действия протеолитических внутриклеточных ферментов. Штриховыми линиями отмечены дисульфидные связи

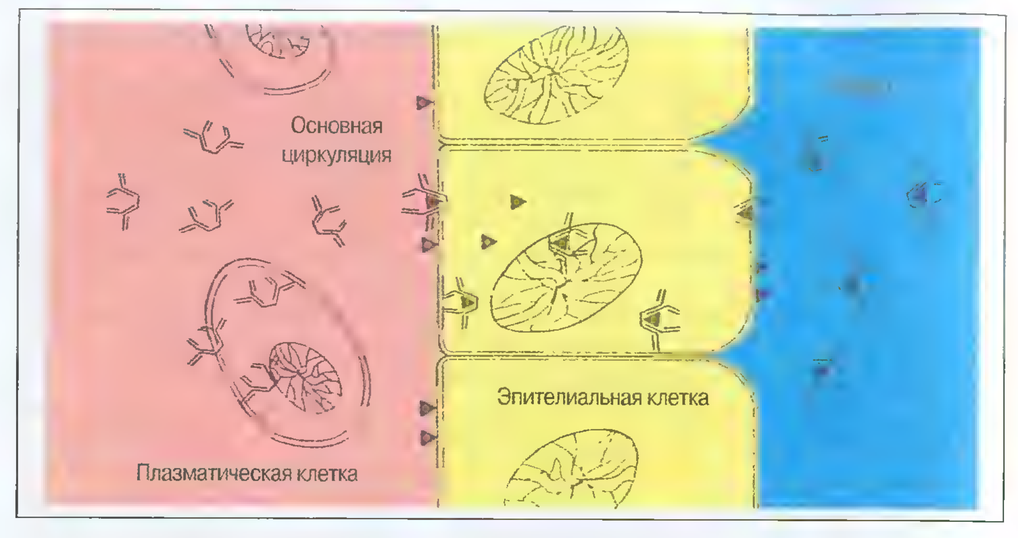


Рис. 3.9. Транспорт иммуноглобулина А в секреторную жидкость

Из основной циркуляции IgA проникает в эпителиальные клетки, взаимодействуя с секреторным компонентом. который на этом этапе транспорта выполняет функцию рецептора. В самой эпителиальной клетке секреторный компонент защищает IgA от действия протеолитических ферментов. Достигнув апикальной поверхности клетки, комплекс IgA–секреторный компонент выходит в секрет субэпителиального пространства

При специфическом взаимодействии димера $(IgA)_2$–J с секреторным компонентом на клеточной поверхности образуется комплекс, который после эндоцитоза перемещается в цитоплазме к апикальной части клетки. Здесь комплекс подвергается действию протеолитических ферментов, что позволяет ему высвобождаться в секреты субэпителиального пространства (рис. 3.9).

Функционально IgA выступает в качестве первой линии защиты на слизистых поверхностях, препятствуя проникновению вирусов в организм. Хотя IgA не связывает комплемент и в силу этого не обладает бактерицидной активностью, он играет важную роль в нейтрализации бактериальных токсинов. Кроме того, у млекопитающих, включая человека, секреторный IgA хорошо представлен в молозиве и обеспечивает таким образом специфический иммунитет новорожденных.

Иммуноглобулин Е (IgE). Содержание IgE в сыворотке крайне мало, хотя удельный вес этих иммуноглобулинов в аллергических реакциях является доминирующим.

IgE представляет собой мономер с молекулярной массой около 190 кДа, включающий две тяжелые (ε-цепи) и две легкие (κ- или λ-типов) цепи. ε-Цепь, как и μ-цепь, содержит пять доменов: один $V_ε$- и четыре $C_ε$-домена.

Функциональная активность IgE проявляется в развитии аллергических реакций. Данный иммуноглобулин способен взаимодействовать с тучными клетками и базофилами посредством Fc-области и соответствующего рецептора на этих клетках. После связи IgE с антигеном (аллергеном) тучные клетки получают сигнал к секреции вазоактивных аминов и других фармакологически значимых соединений, что собственно и приводит к развитию аллергической реакции.

Иммуноглобулин D (IgD). Иммуноглобулин D был открыт как необычный миеломный белок. Затем его обнаружили в сыворотке крови в очень небольшом количестве. У человека δ-цепь включает три С-домена в отличие от IgD мышей, содержащего только два С-домена: $C_\delta1$ и $C_\delta3$. Приводит ли делеция домена $C_\delta2$ к изменению функции IgD мыши, не известно. Данный иммуноглобулин совместно с мономерным IgM экспрессируется на поверхности В-клеток. Вопрос о форме участия IgD в иммунных процессах остается открытым.

3.1.3. Вариабельность иммуноглобулинов

Антигенсвязывающий участок, или активный центр антител, формируется при взаимодействии V_H- и V_L-доменов. Изменения в последовательности аминокислотных остатков этих доменов от белка к белку определяет собственно меняющуюся специфичность антител.

Гипервариабельные и каркасные участки. В общей линейной последовательности аминокислотных остатков V-доменов имеются консервативные положения, где замены одних аминокислот на другие незначительны или даже отсутствуют, и положения с частыми заменами. Эти последние получили название *гипервариабельных участков* (рис. 3.10). Ву и Кабат в 1970 г. предложили способ расчета уровня вариабельности в отдельных аминокислотных положениях по формуле: $V = n/f$, где V — показатель вариабельности; n — число всех аминокислотных остатков, которые обнаружены в данном положении при анализе всех изученных белков; f — частота наиболее часто встречающегося в данном положении аминокислотного остатка. Ву и Кабат в качестве примера приводят следующий расчет. В положении 7 легкой цепи из 63 изученных иммуноглобулинов в 41 случае представлен серин. Кроме того, в этом же положении обнаруживаются пролин, треонин и аспараги-

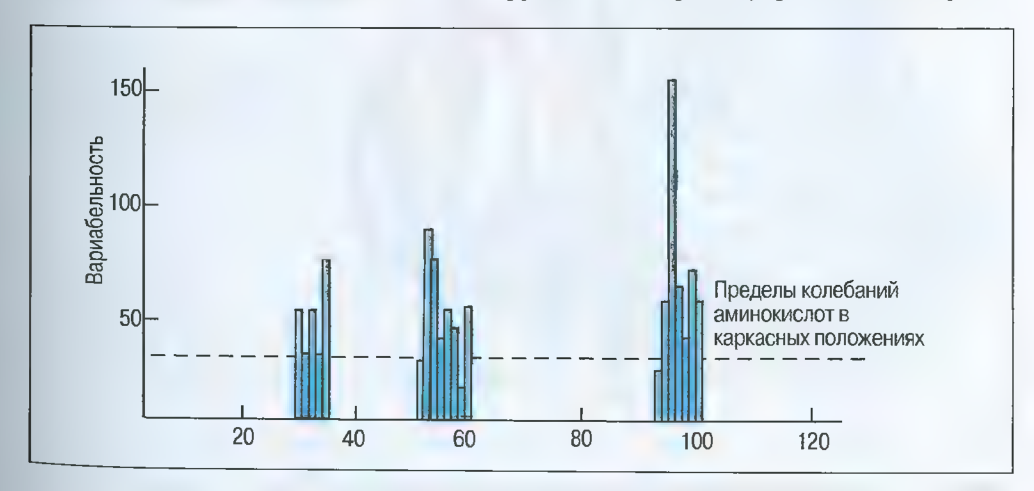


Рис. 3.10. Гипервариабельные положения V-домена тяжелой цепи человека

Столбики — гипервариабельные положения аминокислотных остатков; пунктирная линия — каркасные (консервативные) положения аминокислотных остатков. Вариабельность рассчитана по методу Ву и Кабат

новая кислота – всего четыре аминокислоты. Частота встречаемости (*f*) серина будет 41:63 = 0,65. Из этого следует, что величина вариабельности в положении 7 равняется 4:0,65 = 6,15. Из предложенной формулы величина *V* для инвариантного положения будет равна 1. В то же время теоретически возможный верхний предел вариабельности для 20 аминокислот с одинаковой частотой встречаемости 1/20 составит 20:1/20 = 400.

Количество гипервариабельных положений по отношению к количеству относительно инвариантных положений незначительно и составляет всего 15–20% от общего числа аминокислотных остатков *V*-домена. Молекулярный консерватизм инвариантных положений иллюстрируют сравнительные данные по гомологии иммуноглобулиновых доменов акул и млекопитающих. Гомология между V_L-доменами двух видов акул – тигровой акулы и галапагосской акулы – очень высока и составляет 75% идентичных положений. Степень гомологии V_L-доменов этих видов акул с V_L-доменами человека и собаки, учитывая филогенетический разрыв между ними, также значительна: около 55%. В то же время число совпадающих положений между константными участками легких цепей (C_L) акул, с одной стороны, и человека, мыши и кролика, с другой, – всего 20%. Эти факты указывают на то, что V-домены более консервативны в эволюции позвоночных животных, чем С-домены, и эта консервативность связана с инвариантными (каркасными) участками.

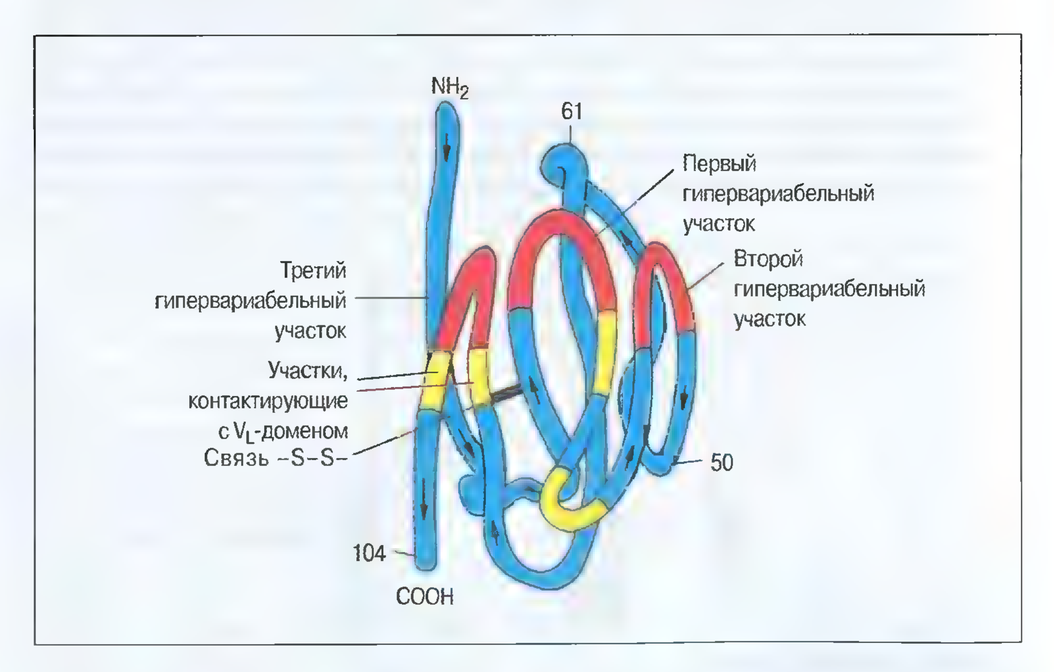


Рис. 3.11. Пространственное объединение гипервариабельных участков V-домена тяжелой цепи IgG человека (миеломного белка New)

Конформационная особенность V-домена состоит в том, что все гипервариабельные участки в результате формирования третичной структуры оказываются в непосредственной близости друг от друга (красный цвет). Каркасные (инвариантные) участки взаимодействуют с соответствующими участками V_L-домена при формировании антигенсвязующего центра (желтый цвет)

Пространственная организация антигенсвязующего участка. С помощью метода рентгенструктурного анализа кристаллизованных белков выяснена «морфология» V-доменов. На рис. 3.11 показана пространственная организация V-домена тяжелой цепи IgG человека (миеломного белка New). Упаковка в глобулу полипептида, составляющего V-домен, происходит так, что гипервариабельные участки оказываются в непосредственной близости друг от друга со стороны «внешнего» NH_2-конца. Каркасные (инвариантные) участки содержат последовательности, вступающие в контактное взаимодействие с V_L-доменом при образовании антигенсвязующей области иммуноглобулина. Взаимодействующие V_H- и V_L-домены формируют полость – место расположения антигена (рис. 3.12). Способность миеломного белка New образовывать комплекс с витамином K_1OH позволила рассчитать размеры антигенсвязующей полости для конкретного гаптенного антигена. Глубина такой полости – 0,5–0,6 нм, длина – 1,6 нм, ширина – 0,7 нм. В большинстве других случаев размеры полости следующие: длина составляет 2,5–3,6 нм, ширина – 1,0–1,7 нм; глубина – 0,6–0,7 нм.

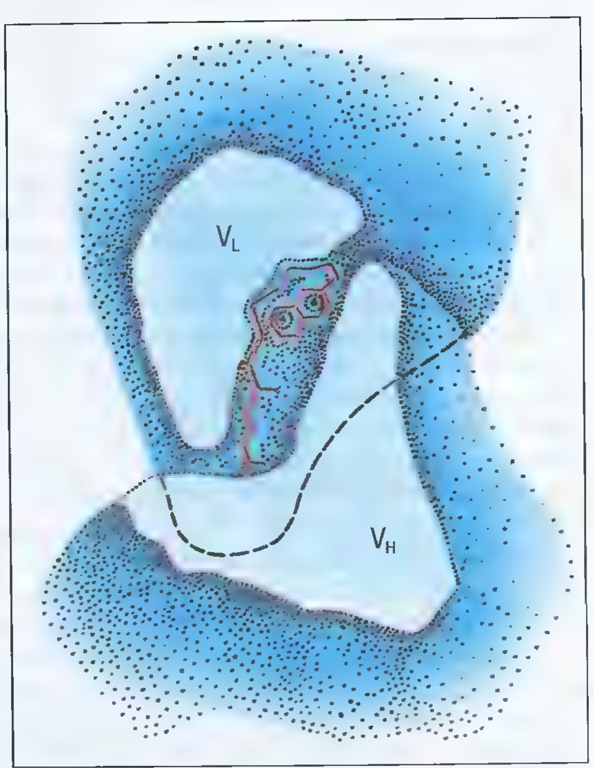


Рис. 3.12. Пример взаимодействия антигенсвязующей области (активного центра) иммуноглобулина с антигеном – витамином K_1OH

Реконструкция на основании данных рентгеноструктурного анализа. V-домены легкой и тяжелой цепей (V_L и V_H) образуют полость глубиной 0,5–0,6 нм, длиной 1,6 нм и шириной 0,7 нм. С этой полостью специфически комплексируется витамин. Как правило, параметры полости других иммуноглобулинов больше отмеченных здесь величин

3.1.4. Гены иммуноглобулинов

На основании данных о двойственности в строении иммуноглобулинов – наличии вариабельной и константной областей в структуре молекулы – Дрейер и Беннет еще в 1965 г. высказали предположение об участии двух генов (V и C) в по-

строении единой тяжелой или легкой цепей молекулы. «Еретическое» для середины 1960-х годов суждение, когда господствовало мнение, выражающееся формулой «один ген – одна полипептидная цепь», нашло свое подтверждение в несколько усложненном виде в настоящее время.

В незрелых В-клетках или в любых других клетках V- и С-гены той или иной группы сцепления, находясь на одной и той же хромосоме, удалены друг от друга на значительное расстояние. Подобная нативная локализация генов для иммуноглобулинов определяется как состояние *зародышевой линии* (англ. germline). Однако по мере созревания В-клеток от некоммитированных предшественников к зрелым формам происходит реорганизация генома, так что пространственно удаленные генные сегменты оказываются в непосредственной близости друг от друга, образуя единый информационный участок. Этот процесс перестройки генетического материала получил название *соматической рекомбинации*. Он связан только с соматическими клетками (в случае с иммуноглобулиновыми генами – только с В-клетками), не наследуется и, следовательно, не затрагивает половые клетки.

Рекомбинация генов, кодирующих легкие и тяжелые цепи иммуноглобулинов. Участок ДНК в некоммитированной клетке, ответственный за синтез легкой цепи к-типа, включает три группы генов (рис. 3.13): 1) 250 $V_к$-генов, каждый из которых кодирует 94—95 аминокислотных остатков $V_к$-домена; 2) 5 J-мини-генов (от англ. joining), один из которых функционально не активен и называется в силу этого *псевдогеном*. Каждый из работающих J-генов кодирует последовательность из 12—14 аминокислотных остатков и тем самым обеспечивает достройку V-гена до того количества нуклеотидных остатков, которое контролирует синтез полноценного $V_к$-домена; 3) $C_к$-ген кодирует константный регион легкой к-цепи.

Процесс рекомбинации начинается с объединения одного из $V_к$-генов с одним из J-мини-генов. Объединение этих сегментов ДНК происходит за счет *делеции* (удаления) последовательности пар нуклеотидов, входящих в некодирующую (интронную) последовательность между V и J. Место рекомбинации V–J не является жестко фиксированным. В процессе рекомбинации объединение может происходить как между собственно основаниями V и J, так и между основаниями, соседствующими с этими сегментами. Подобные «ошибки» вносят дополнительную изменчивость в третий гипервариабельный участок V-домена.

Прошедшая первичная рекомбинация обеспечивает формирование к-локуса, который состоит из трех *экзонов* (кодирующих участков): L-сегмента, кодирующего лидерный пептид – участок незрелой к-цепи, который включает 20—25 аминокислотных остатков; рекомбинантного V–J-гена и С-гена константной области.

Подобная рекомбинантная ДНК в коммитированных клетках обеспечивает образование первичного транскрипта – пре-мРНК ядра.

В результате процессинга (созревания пре-мРНК ядра) некодируемые участки между J и C, а также между L и V вырезаются. Таким образом, зрелая, связанная с полирибосомами РНК лишена некодирующих последовательностей. При этом все кодирующие последовательности оказываются слитыми в единый информационный участок. Зрелая мРНК транслирует полипептид с дополнительным лидерным участком (L) аминокислотных остатков. Предполагается, что лидерный

участок, включающий в основном гидрофобные аминокислоты, способствует прохождению к-цепи через мембрану эндоплазматического ретикулума. После прохождения он отщепляется, и зрелая к-цепь приобретает, наконец, тот аминокислотный состав, который характерен для секретируемого иммуноглобулина.

Гены, кодирующие легкие цепи λ-типа, организованы несколько иначе. Для данного типа легких цепей известно два локуса, каждый из которых содержит один V-ген и по два J- и C-гена. Однако $J_\lambda 4$ и $C_\lambda 4$ функционально неактивны.

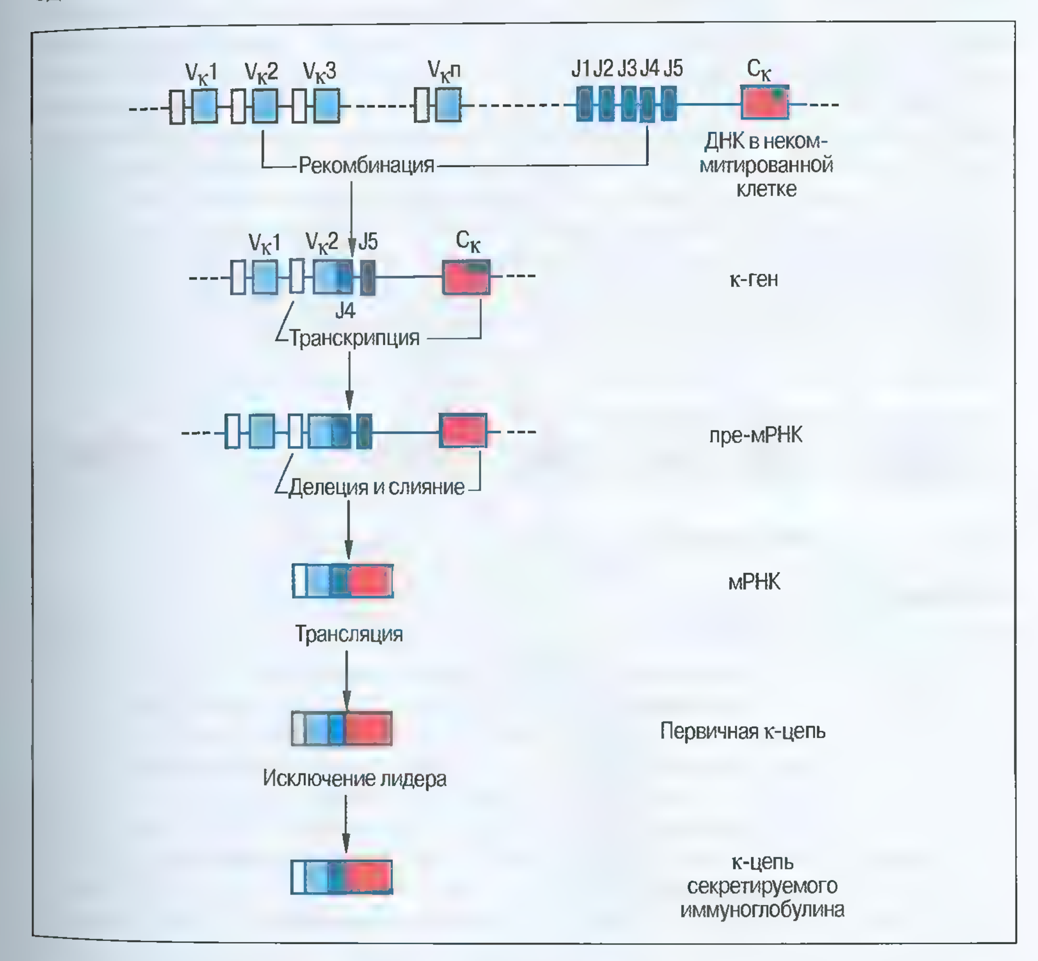


Рис. 3.13. Рекомбинация генов, кодирующих κ-цепь иммуноглобулинов

В некоммитированной В-клетке гены, кодирующие κ-цепь иммуноглобулинов, отделены друг от друга в ДНК значительным расстоянием. Процесс рекомбинации начинается с объединения одного из V_κ-генов (V_κ 2) с одним из J-мини-генов (J4) В результате формируется κ-локус, контролирующий незрелую пре-мРНК ядра. При созревании такой РНК происходит слияние (сплайсинг) VJ с C_κ-геном за счет делеции некодируемой последовательности нуклеотидов. Зрелая мРНК представляет собой единый информационный участок ($LV_\kappa 2J4C_\kappa$), транслирующий первичную κ-цепь. При созревании κ-цепи лидерная последовательность аминокислотных остатков (L) удаляется, что и приводит, наконец, к формированию полноценной κ-цепи

Несмотря на различия в хромосомной организации между генами κ- и λ-цепей, сам процесс реорганизации λ-генов внутри локуса идентичен процессу, известному для κ-генов.

Общая схема реорганизации генов для тяжелых цепей иммуноглобулинов та же, что и для легких цепей κ-типа, однако имеются и специфические особенности (рис. 3.14). В отличие от генетического контроля V-доменов легких цепей, V-домены тяжелых цепей кодируются тремя генными сегментами: V, D и J. Кроме того, в отличие от генов легких κ-цепей, включающих только один С-ген константной области, у человека таких генов десять, у мышей – восемь. Они ответственны за кодирование классов и подклассов иммуноглобулинов.

При образовании участка генома, кодирующего V-домен тяжелых цепей, происходят два рекомбинационных события. Первое – это объединение D- и J-сегментов (мини-генов) и второе – объединение DJ-участка с V-геном. На начальном этапе дифференцировки В-клеток происходит слияние VDJ-гена с геном, контролирующим константную область IgM (C_μ). По мере функционального созревания В-клеток наблюдается переключение синтеза IgM на иммуноглобулины других классов и подклассов при сохранении исходной специфичности V-домена, т.е. происходит перекомбинация того же VDJ-гена с C_H-генами иных классов и

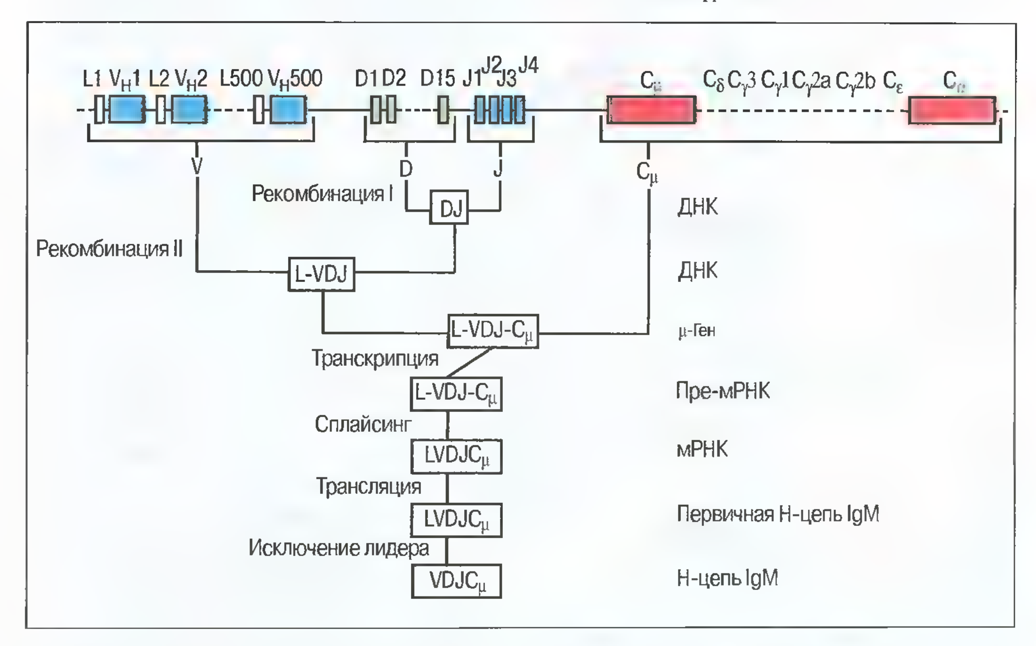


Рис. 3.14. Рекомбинация генов, кодирующих тяжелые цепи иммуноглобулинов

Тяжелые цепи иммуноглобулинов кодируются четырьмя типами генов: V, D, J и С. Первое рекомбинационное событие: объединение одного из 15 D-мини-генов с одним из четырех J-мини-генов. Второе рекомбинационное событие: объединение одного из 500 V_H-генов с DJ. Следующий этап в процессе рекомбинации – образование VDJ-C_μ-локуса. Образующаяся при транскрипции с этого локуса пре-мРНК вступает в процесс созревания – сплайсинга. Особенность реорганизации генома В-клеток состоит в переключении контроля синтеза иммуноглобулинов одного класса на другой при сохранении контроля специфичности за счет реорганизованного VDJ- локуса

подклассов. В целом в процессе развитии отдельных В-клеточных клонов возможны две формы реорганизации генома: разные VDJ-гены объединяются с одним и тем же C_H-геном, что обеспечивает формирование разных клонов (ранний этап развития В-клеток), и один и тот же VDJ-ген образует единый информационный участок с разными С-генами (внутриклеточное переключение синтеза с одного класса на другой).

Случайная рекомбинация генных сегментов – основа вариабельности иммуноглобулинов. Изучение хромосомной организации иммуноглобулиновых генов и этапов их реорганизации в процессе развития В-клеток позволило достаточно точно определить первопричину вариабельности антител. Ее основу составляет случайное объединение отдельных генных сегментов в результате рекомбинации V,D,J для тяжелых цепей и V,J для легких цепей иммуноглобулинов (рис. 3.15). Принимая число V_H-генов равным 500 (возможно их больше), D-сегментов – 15 и J-сегментов – 4, число вариантов V-доменов при использовании только этих показателей составит величину $500 \cdot 5 \cdot 4 = 30\,000$ (рис. 3.15). Учитывая возможные нарушения при рекомбинации, связанные с включением пограничных нуклеотидов справа и слева от D- и J-сегментов, число 30 000 следует умножить на 4. Таким образом, общее число вариантов V_H-доменов составит 120 000. Расчет для к-цепи включает 250 $V_к$-генов, 4 J-сегмента и множитель 2 – результат ошибок считывания пограничных нуклеотидов. Из этих данных следует, что число вариантов $V_к$-доменов будет равняться $250 \cdot 4 \cdot 2 = 2000$. Так как молекулы иммуноглобулинов строятся из случайного сочетания тяжелых и легких цепей, общее число вариантов антигенсвязуюших центров, а следовательно, и специфических иммуноглобулинов составит $120\,000 \cdot 2\,000 = 2{,}4 \cdot 10^8$.

Полученная величина вариабельности иммуноглобулинов выведена с учетом только трех основных показателей: набора нативных (зародышевых) V-генов; случайной рекомбинации генных сегментов (V–J, V–D–J); случайного взаимодействия V_H с V_L при образовании молекулы иммуноглобулинов. Увеличение разнообразия иммуноглобулинов происходит также от вставок случайных нуклеотидов – их некомплементарного синтеза в процессе реорганизации V–J, V–D–J, ошибок при объединении генных сегментов (включение в нуклеотидную последовательность при рекомбинации пограничных нуклеотидов, нарушение рамки считывания у D-сегментов, генной конверсии и соматических мутаций).

Явление генной конверсии при формировании активных V_L-,V_H-генов наблюдается у птиц, кроликов, человека, и связано это явление с существованием в геноме псевдогенов, которые не имеют лидерной последовательности, промоторов и необходимых для V–D–J-рекомбинации последовательностей: гептамер–спейсер–наномер. Наиболее ясная картина участия псевдогенов в формировании многообразия иммуноглобулинов представлена у кур. У них число генных сегментов, контролирующих вариабельность иммуноглобулинов по «классическому» пути, крайне ограничено. Для легких цепей известен лишь один вариабельный ген (VJ). В кодировании тяжелой цепи принимают участие: один V_H-ген, один J_H-сегмент и около 16 D_H-сегментов. Ясно, что столь скромный набор функционально активных генов не может обеспечить необходимый диапазон вариабельности иммуноглобулинов.

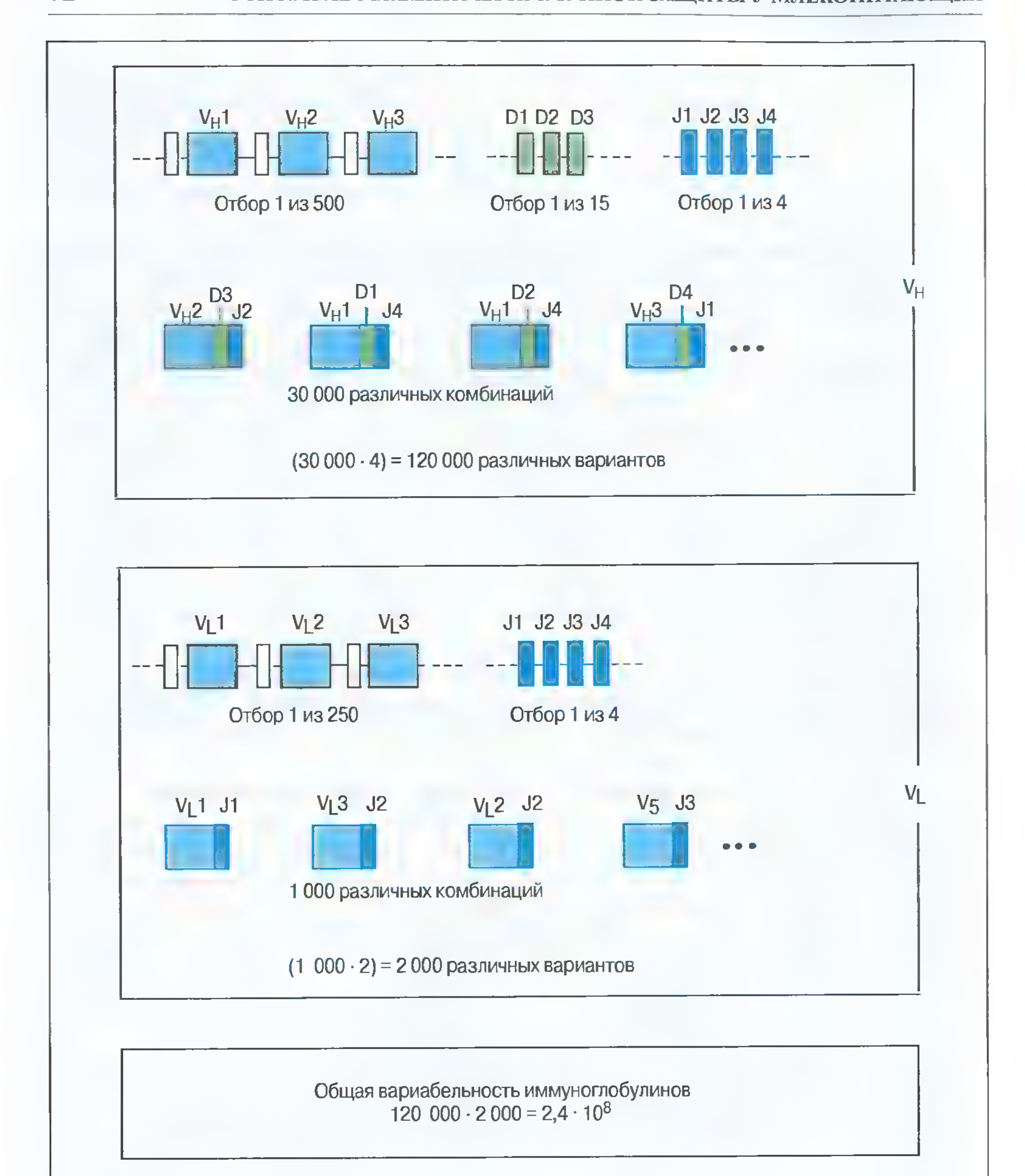


Рис. 3.15. Случайная рекомбинация генов иммуноглобулинов — основа их вариабельности

Схема случайных, разнообразных сочетаний генных сегментов, контролирующих V_H-домены тяжелых цепей иммуноглобулинов. В результате неконтролируемой рекомбинации этих сегментов возможно образование до 30 000 вариантов специфических антител. Величина выведена без учета дополнительной изменчивости в результате нарушений при рекомбинации, связанных с включением пограничных нуклеотидов справа и слева от D- и J-мини-генов. С учетом этих нарушений число вариантов тяжелых цепей увеличивается до 120 000. Аналогичные расчеты касаются и генов для V_L. Общая вариабельность как результат взаимодействия V_H с V_L составляет $120\,000 \cdot 2\,000 = 2{,}4 \cdot 10^8$

В то же время у кур помимо функционального V_L-гена имеется 25 псевдогенов. Эти гены не пассивны в полном смысле. В процессе становления клонального репертуара В-клеток происходит постоянное включение части последовательностей псевдогенов в структуру основного V_L-гена.

Определенный вклад в становление многообразия иммуноглобулинов вносят соматические мутации в соответствующих V-генах. Например, было проведено изучение семейства моноклональных антител к гаптену фосфорилхолину. Исходная позиция состояла в том, что в условиях отсутствия соматического мутагенеза все изученные по последовательности аминокислот мАТ должны быть полностью идентичны. Однако сравнение V-генов моноклонов с гаметной последовательностью выявило следующие факты. Все мАТ IgM-класса были полностью идентичны прототипу – продукту гаметного V-гена. В то же время мАТ IgG- и IgA-классов имели от 1 до 8 замен в V-гомологичных доменах как в гипервариабельной, так и каркасной областях. Причем ряд мАТ обладал большей аффинностью к фосфорилхолину, чем исходный протопит. Из этого наблюдения был сделан вывод о реальном проявлении процесса мутационных изменений в V_H-гене. Следует подчеркнуть, что мутационный процесс касается не доантигенного пути становления клонов В-клеток, а постантигенного, т.е. того пути, который связан с реальным ответом В-клеток на антиген.

Учитывая все эти дополнительные факты, следует думать, что диапозон вариабельности иммуноглобулинов в $3 \cdot 10^6$ относится к зародышевой линии, к ситуации «покоящегося» генома, передающегося по наследству. Как только начинается онтогенетический путь до- или постантигенного развития В-клеток, начинают проявляться конвергенции генов, соматического мутагенеза, рекомбинации генов с теми ошибками, о которых уже говорилось. По мнению некоторых авторов, вариабельность иммуноглобулинов с учетом отмеченных факторов составляет 10^{11}–10^{20} специфических иммуноглобулинов.

По отношению к В-клеточной популяции данные цифры должны были бы говорить о количестве клонов В-клеток, способных взаимодействовать с множеством антигенных эпитопов. Однако в организме, например, у человека общее число В-лимфоцитов составляет не более 10^{10}. Несопоставимость цифр очевидна. Остается предположить, что в реальных условиях жизни животных и человека либо не все V-гены способны вступит в процесс рекомбинации, либо не во всех случаях происходят процессы, которые являются онтогенетическими источниками разнообразия иммуноглобулинов.

3.2. Антигенраспознающие рецепторы В-клеток

Проблема распознавания антигена клетками иммунной системы возникла давно – в период зарождения иммунологии. Первым, кто пытался разрешить этот вопрос, был немецкий фармаколог Пауль Эрлих, выдвинувший теорию «боковых цепей» в самом начале нынешнего столетия. По представлениям этого ученого, клетка, способная к продукции антител, имеет на своей поверхности широкий набор рецепторов (боковых цепей – антител), каждый из которых вза-

имодействует только с одним определенным антигеном. Контакт антигена с соответствующим рецептором приводит к отрыву последнего от клетки и к его переходу в экстрацеллюлярную среду. Компенсаторно клетка начинает усиленное производство именно тех рецепторов-антител, которые осуществили взаимодействие с данным антигеном. В этих отношениях между рецептором и антигеном собственно и заключены специфичность реакции и специфичность образующихся антител.

Теория «боковых цепей» была выдвинута в то далекое время, когда ничего не было известно ни о клетках-продуцентах антител, ни о природе самих антител, кроме того, что они являются белками сыворотки крови, способными к специфическому взаимодействию с антигеном. Тем более удивляет прозорливость П. Эрлиха, поскольку современные данные подтверждают основной вывод о присутствии антигенраспознающих рецепторов на поверхности клетки. Конечно, строение рецепторов и тонкие молекулярно-клеточные механизмы взаимодействия рецептор—антиген стали понятными лишь в последнее время.

3.2.1. Общая характеристика

Антигенраспознающие рецепторы В-клеток были обнаружены достаточно легко, в основном с помощью антииммуноглобулиновых антител, меченных либо радиоактивными химическими элементами, либо флюоресцеином. Иммуноглобулины всех изотипов имеют как секреторную, свободно накапливающуюся в жидкостях организма, так и мембранную (рецепторную), экспрессирующуюся на поверхности В-клеток форму. При этом доминирующим мембранным иммуноглобулином является мономер IgM.

Особенностью мембранного IgM по сравнению с его секреторным гомологом является наличие гидрофобного, трансмембранного и хвостового, находящегося



Рис. 3.16. Пример прямого взаимодействия В-клетки с антигеном

В-клетка от примированных мышей, вступившая в контактное взаимодействие с корпускулярным антигеном (эритроцитами барана). Микрофотография получена с помощью сканирующего электронного микроскопа

в цитоплазме доменов. В то же время секреторная форма IgM имеет на С-конце углеводные остатки, увеличивающие растворимость данной формы иммуноглобулина, и цистеиновый остаток, необходимый для полимеризации мономеров с помощью J-цепи.

В онтогенезе первые мембранные формы IgM появляются на заключительном этапе дифференцировки В-клеток в костном мозге. Зрелые В-клетки экспрессируют достаточно большое количество этого белка: $2 \cdot 10^5$ молекул на одну клетку.

Такой рецепторный иммуноглобулин либо непосредственно взаимодействует с белковым или корпускулярным антигеном (рис 3.16), либо с антигенными детерминантами на поверхности антигенпредставляющих клеток (макрофагов, дендритных клеток и др.).

3.2.2. Генетический контроль структуры мембранного иммуноглобулина

Контроль синтеза мембранного и секреторного IgM осуществляется одним и тем же участком ДНК. Различия обеспечиваются на уровне транскрипции. В состав иммуноглобулинового локуса входят два специализированных экзона (на рис 3.17

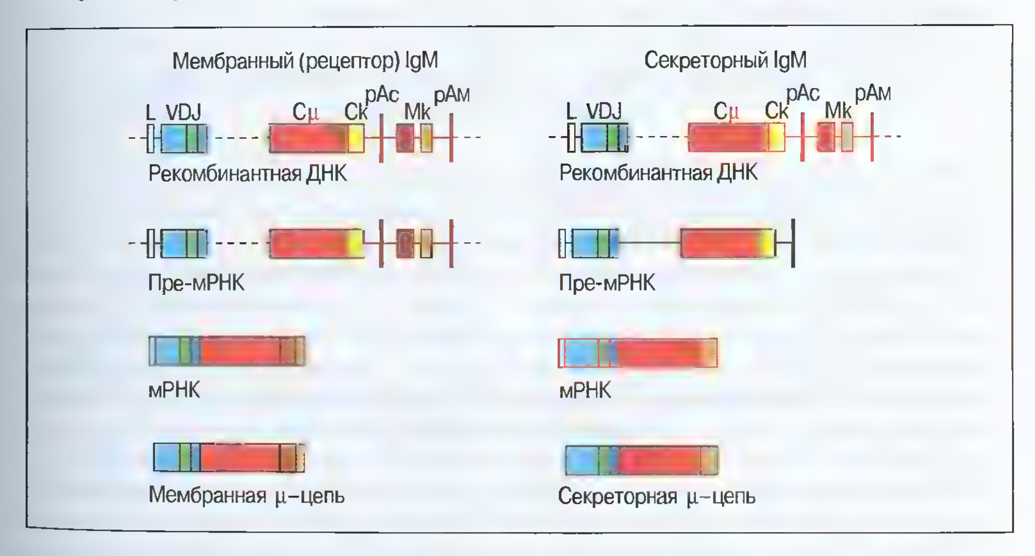


Рис. 3.17. Реорганизация локуса, контролирующего образование мембранной (рецепторной) и секреторной форм иммуноглобулина

При образовании мембранной или секреторной форм иммуноглобулина процесс реорганизации генома характеризуется следующими особенностями. Рекомбинантная ДНК содержит последовательность нуклеотидов от лидерного участка (L) до терминальной последовательности полиаденина (pAm – полиаденин мембранного пути развития) включительно. В реорганизуемый локус входят экзон Ск (секреторный компонент) и два экзона Мк (мембранный компонент), один из которых контролирует трансмембранную последовательность, а второй – цитоплазматическую последовательность аминокислотных остатков рецепторного иммуноглобулина. В тех случаях, когда образующийся первичный транскрипт (пре-мРНК) включает экзоны Мк, синтезируется μ-цепь мембранного иммуноглобулина. При этом Ск и pAc (полиаденин секреторного пути реорганизации) подвергаются делеции при сплайсинге пре-мРНК. Если первичный транскрипт не включает последовательность Мк и pAm, но сохраняет Ск и pAc, то в результате последующих преобразований синтезируется μ-цепь секреторного иммуноглобулина

обозначены как Мк), контролирующих трансмембранный участок и цитоплазматический хвост мембранного IgM. Кроме того, в этом же локусе, непосредственно за геном $C_{\mu}4$ представлена последовательность нуклеотидов, ответственная за С-концевой участок секреторного иммуноглобулина.

В тех случаях, когда при образовании пре-мРНК считывается вся информация с локуса от лидерного участка до Мк, то формирующаяся в результате сплайсинга зрелая мРНК обеспечивает синтез тяжелой цепи мембранного IgM. Существенным моментом в процессе сплайсинга является делеция участка с последовательностью, свойственной секреторному иммуноглобулину (участок Ск на рис 3.17). Если же считывание информации не затрагивает экзоны Мк, характерные для мембранного иммуноглобулина, то в результате будет образовываться тяжелая цепь секреторного иммуноглобулина.

Уровень продукции секреторного иммуноглобулина выше подобного уровня мембранного белка. Возможно, это связано с тем, что энергетических и химических затрат для синтеза секреторного иммуноглобулина требуется меньше по сравнению с мембранной формой. Кроме того, сплайсинг пре-мРНК для секреторного иммуноглобулина несколько упрощен, так как не требуется удаления Ск-последовательности. Механизм генетического контроля образования мембранного иммуноглобулина для всех изотипов идентичен.

3.2.3. Антигенраспознающие рецепторы в процессах активации В-клеток

Мембранный иммуноглобулин после взаимодействия с антигеном не может сам по себе активировать ответ В-клеток. Связано это с тем, что его цитоплазматический хвост слишком короток. Он содержит всего несколько аминокислотных остатков, не способных вступать в реакционные отношения с внутриклеточными компонентами. Для переноса сигнала с антигенраспознающего рецептора внутрь клетки имеются специальные, низкомолекулярные белки с достаточно длинным хвостовым участком, находящиеся на клеточной поверхности в непосредственной близости от мембранного иммуноглобулина. Всего таких полипептидов два: Igα и Igβ. Белок Igα специфичен по отношению к тому или иному изотипу иммуноглобулина. В то же время Igβ является общим для всех изотипов (рис. 3.18).

Помимо передачи сигнала эти белки выполняют роль «извозчиков», способствуя выходу мембранного иммуноглобулина на поверхность клетки. В отсутствие этих белков иммуноглобулины остаются во внутриклеточном компартменте.

Активирование В-клеток через взаимодействие антигена с рецептором может происходить как самостоятельно, так и с помощью цитокинов, продуцируемых Т-хелперами и макрофагами. В первом случае инициация ответа обеспечивается агрегацией рецепторов при их перекрестном связывании соответствующим лигандом. Перекрестное связывание рецепторов происходит в тех случаях, когда антиген обладает повторяющимися, идентичными эпитопами. Для реализации ответа таким антигенам не нужна помощь со стороны Т-хелперов. Отсюда их название – тимуснезависимые антигены. К ним относятся, в частности, полисахариды бактерий.

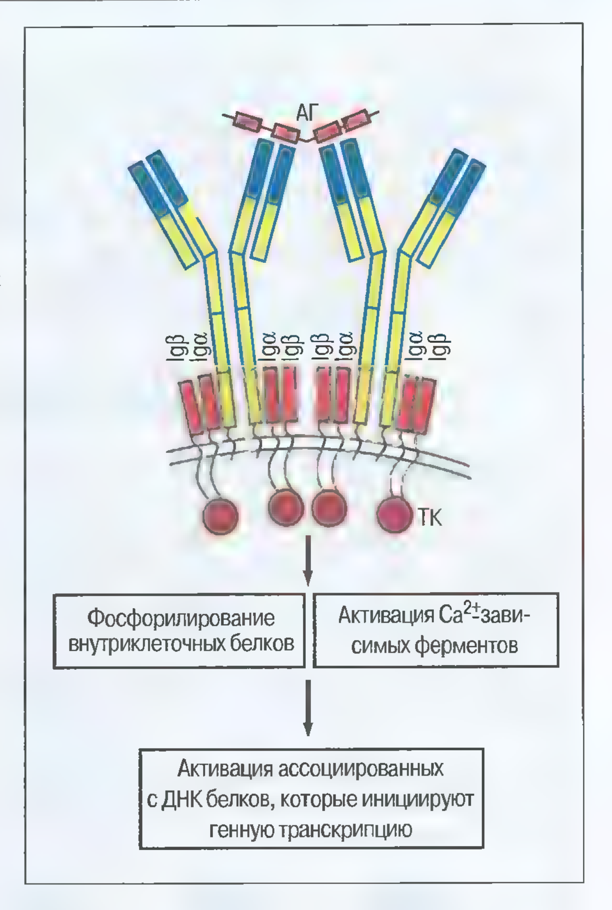


Рис. 3.18. Активация В-клеток при взаимодействии с антигеном

Тимуснезависимый антиген (АГ), взаимодействуя с мембранным (рецепторным) иммуноглобулином, приводит к его агрегации. В результате Igα и Igβ, входящие в антигенраспознающий комплекс, взаимодействуют в цитоплазме с тирозинкиназами (ТК), которые в свою очередь катализируют ряд внутриклеточных биохимических процессов, приводящих к инициации транскрипции иммуноглобулиновых генов

Образование агрегатов мембранных иммуноглобулинов под влиянием антигена (в англ. литературе cupformation) приводит к взаимодействию различных тирозинкиназ с Igα и Igβ. Активированные киназы провоцируют каскад реакций, в результате которых в клетке накапливаются Ca^{2+}-зависимые ферменты и происходит фосфорилирование внутриклеточных белков. Именно они на заключительном этапе формирования ответа В-клеток активируют связанные с ДНК белки и таким образом инициируют транскрипцию специфических генов.

3.3. Этапы дифференцировки В-лимфоцитов в костном мозге

Весь путь развития В-лимфоцитов от стволовой кроветворной клетки до плазмацита включает несколько этапов, каждый из которых характеризуется своим клеточным типом. Всего определено восемь таких типов:

1) *стволовая кроветворная клетка* – общий предшественник для всех ростков дифференцировки лимфомиелопоэза;

2) *общий лимфоидный предшественник* для Т- и В-клеточного пути развития – наиболее ранняя лимфоидная клетка, для которой еще не определилось одно из двух направлений развития;

3) *ранняя про-В-клетка* – ближайший потомок предыдущего клеточного типа и предшественник последующих, продвинутых в дифференцировке клеточных типов (приставка «про» от англ. progenitor);

4) *поздняя про-В-клетка;*

5) *пре-В-клетка* – клеточный тип, окончательно вышедший на В-клеточный путь развития (приставка «пре» от англ. precursor);

6) *незрелая В-клетка* – завершающая костномозговое развитие клеточная форма, которая активно экспрессирует поверхностный иммуноглобулин и находится в стадии отбора на способность взаимодействовать с собственными антигенами;

7) *зрелая В-клетка* – клеточный тип периферии, способный взаимодействовать только с чужеродными антигенами;

8) *плазматическая клетка* – эффекторная, антителопродуцирующая клеточная форма, которая образуется из зрелой В-клетки после ее контакта с антигеном.

3.3.1. Участие стромы костного мозга в дифференцировке В-клеток

Стадии развития от стволовой кроветворной клетки до незрелого В-лимфоцита происходят на территории костного мозга под прямым воздействием стромального микроокружения. Простым доказательством подобного утверждения являются опыты in vitro. Удаление из клеточной культуры стромальных элементов прерывает формирование В-лимфоцитов из стволовых клеток костного мозга. Реконструкция культуры восстанавливает процесс накопления В-клеток.

Участие клеток стромы в дифференцировке В-лимфоцитов проявляется в двух формах. Ранние этапы развития В-лимфоцитов зависят от прямого контактного

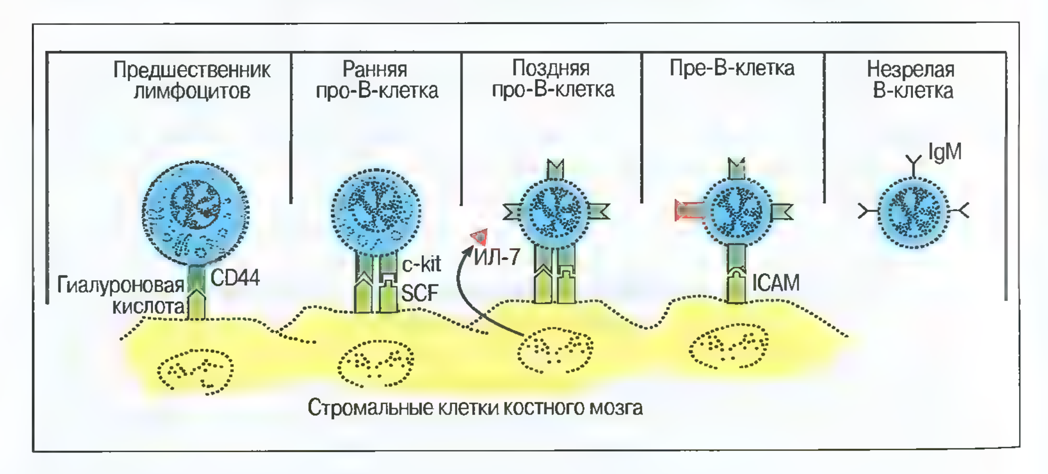


Рис. 3.19. Дифференцировка В-клеток в костном мозге

Весь путь развития В-клеток в костном мозге делят на два основных этапа. Первый из них проходит при доминирующем участии адгезивных молекул: CD44, c-kit и SCF. На этом этапе стволовая кроветворная клетка дифференцируется в лимфоцитарный предшественник, общий для Т- и В-клеток, от которого образуется ранняя про-В-клетка. На втором этапе в процесс костномозговой дифференцировки включаются цитокины, в первую очередь интерлейкин-7 (ИЛ-7). В результате путь развития от ранней про-В-клетки идет через образование поздней про-В-клетки, пре-В-клетки к незрелой В-клетке – заключительной клеточной форме дифференцировки в костном мозге. Отличительной чертой незрелой В-клетки является экспрессия на клеточной поверхности IgM, но отсутствие IgD, который появляется позднее у зрелых В-клеток периферии

взаимодействия со стромальными элементами. На более поздних этапах В-лимфоциты испытывают воздействие гуморальных факторов.

Взаимодействие наиболее ранних предшественников В-клеток со стромальными клеточными элементами осуществляется с помощью поверхностных адгезивных молекул (рис 3.19). Первые контактные отношения возникают на уровне стволовой кроветворной клетки и общего лимфоидного предшественника через взаимодействие между гиалуроновой кислотой клеточной поверхности стромальных клеток и CD44. Этот типичный адгезивный белок с относительно небольшой молекулярной массой 80—95 кДа, хорошо представлен на поверхности различных типов лейкоцитов и эритроцитов. Помимо установления физического контакта между клетками стромы и ранними предшественниками В-клеток, он принимает участие в других формах межклеточных взаимодействий, а также в процессах клеточной миграции и метастазирования. Вероятно, связывание CD44 с лигандом не несет какой-либо прямой сигнальной функции, но стимулирует взаимодействие рецептора c-kit ранних про-В-клеток с другим рецептором стромальных клеток — SCF (от англ. stem-cell factor). Молекула c-kit обладает свойствами тирозинкиназ. В результате связывания этих поверхностных молекул происходит активация c-kit, что влечет за собой усиление пролиферации и переход В-клеточных предшественников на более продвинутый уровень дифференцировки — стадию поздних про-В-клеток.

Этот этап дифференцировки характеризуется появлением на поверхности поздних В-клеток рецептора к интерлейкину-7 и включением в процесс соответствующего цитокина, секретируемого стромальными клетками. Активность интерлейкина-7 в качестве ростового фактора вполне достаточна для поддержания пролиферации и выживания развивающихся клеток. В результате их зависимость от SCF снижается и на стадии пре-В-клеток полностью прекращается. Контакт пре-В-клеток со стромой осуществляют адгезины ICAM.

Процесс В-клеточного развития в костном мозге завершается формированием незрелой В-клетки, экспрессирующей поверхностный IgM. Таким образом, данный тип клеток подготовлен к миграции на периферию.

3.3.2. Реорганизация генов тяжелых и легких цепей иммуноглобулинов в процессе дифференцировки В-клеток

Параллельно изменению экспрессии рецепторов в процессе созревания В-клеток в костном мозге происходит реорганизация генов, контролирующих тяжелые и легкие цепи IgM (табл. 3.2).

Первыми в процесс реорганизации вступают гены тяжелых цепей. На этапе ранних про-В-клеток начинается слияние D- и J-генных сегментов тяжелых цепей IgM. На следующем этапе развития — этапе поздних про-В-клеток — реорганизованный DJ вступает в процесс объединения с V-генами. Реорганизация генов тяжелых цепей завершается на этапе пре-В-клеток. Этот же этап характеризуется синтезом μ-цепей и их экспрессией на поверхности клетки.

Таблица 3.2.

Реорганизация иммуноглобулиновых генов в процессе дифференцировки В-клеток

Гены и sIg	Стволовая клетка	Ранняя про-В-клетка	Поздняя про-В-клетка	Пре-В-клетка	Незрелая В-клетка
Гены Н-цепи	Зародышевая организация	D-J-реорганизация	V-DJ-реорганизация	Реорганизованный VDJ	Реорганизованный VDJ
Гены L-цепи	Зародышевая организация	Зародышевая организация	Зародышевая организация	Реорганизация V-J	Реорганизованный VJ
sIg	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	μ-Цепь в цитоплазме и на поверхности клетки	Экспрессия IgM на поверхности клетки

Примечание. sIg – поверхностный (мембранный) иммуноглобулин.

В ситуации, когда имеется мутация гена для μ-цепи иммуноглобулина, препятствующая выходу тяжелой цепи на клеточную поверхность, развитие заканчивается на этапе пре-В-клеток.

Вероятно, сам факт присутствия μ-цепи на клеточной поверхности является сигналом к началу синтеза легких цепей.

Реорганизация генов легких цепей начинается позднее по сравнению с генами тяжелых цепей, происходит только на этапе пре-В-клеток и завершается на заключительном этапе развития в костном мозге – этапе незрелых В-клеток. В результате создаются условия для полноценного синтеза IgM и его экспрессии на клеточной поверхности.

Поскольку реорганизация генных сегментов носит случайный характер, сформировавшиеся иммуноглобулиновые молекулы будут иметь широкую вариабельность по специфичности антигенсвязующего участка. Причем в процессе такой реорганизации у отдельно взятой клетки будут синтезироваться моноспецифические иммуноглобулины одной случайно сформированной специфичности. Интродукция в геном клетки уже реорганизованного гена для тяжелых цепей прерывает процесс собственной рекомбинации генов для этого типа цепей. Все В-клетки таких трансгенных мышей будут синтезировать тяжелую цепь, соответствующую использованному трансгену. При этом гены легких цепей реорганизуются по заданной программе, обеспечивая широкий набор L-цепей. Аналогично у мыши, в геном которых интродуцирован реорганизованный ген легких цепей, прерывается процесс реорганизации собственных L-генов. Эти данные лишний раз демонстрируют способность В-клетки производить иммуноглобулины только одной специфичности. Случайность рекомбинационных процессов, обеспечивающих образование реорганизованного гена определенной специфичности, закрывает все прочие потенциально возможные сочетания генных сегментов.

3.3.3. Селекция В-клеток в костном мозге

Для завершения дифференцировки В-клеток на последнем этапе их развития в костном мозге, т.е. для трансформации незрелых В-клеток с поверхностным IgM в зрелые В-клетки периферии, экспрессирующие два иммуноглобулина – IgM и IgD, требуется несколько дней. За это время происходит одно из главных событий в становлении В-системы иммунитета – отбор клеток, реагирующих только на чужеродные антигены. В-клетки, иммуноглобулиновые рецепторы которых способны взаимодействовать с собственными антигенами, либо погибают в результате апоптоза, либо приходят в состояние ареактивности (анергии). Апоптоз развивается обычно в тех случаях, когда распознавание антигена как «своего» происходит на поверхности клетки. Распознавание свободного (гуморального) антигена приводит к анергии (рис. 3.20).

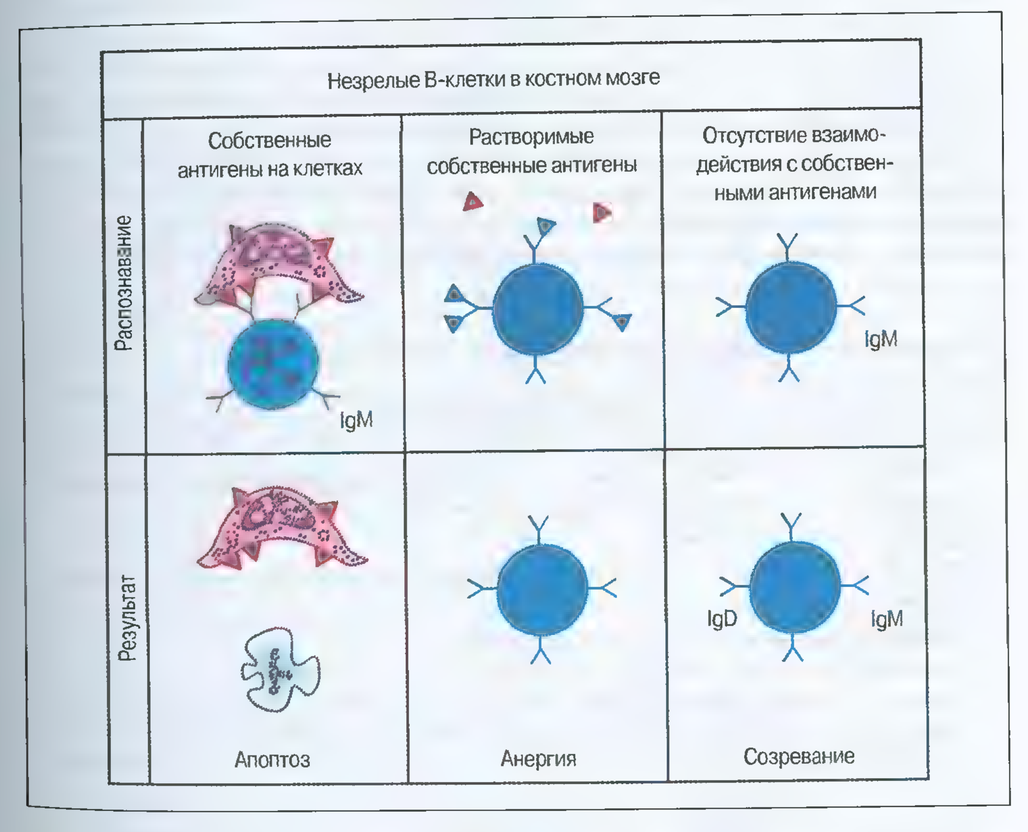


Рис. 3.20. Отрицательный отбор В-клеток в костном мозге по способности распознавать собственные антигены

В процесс селекции вступают незрелые В-клетки, экспрессирующие IgM-рецепторы. Известны две формы отрицательного отбора self-реактивных В-клеток: отбор по антигенам, представленным на поверхности клеток, и отбор по растворимым антигенам. В первом случае результат распознавания аутоантигенов приводит к апоптозу В-клеток, во-втором – к функциональной блокаде В-клеток – анергии

Наиболее четкая информация о реальности такого отбора пришла из опытов с трансгенными мышами. Интродукция в геном мышей реорганизованных генов для тяжелых и легких цепей иммуноглобулинов приводит к тому, что все зрелые B-клетки имеют проверхностный IgM одной специфичности, соответствующей введенным генам.

В тех случаях, когда трансгены, контролирующие синтез антител, специфичных к антигенам I класса MHC определенного генотипа (например, к H-2K^a), вводятся мышам иного генотипа (H-2K^b), формирование зрелых B-клеток происходит нормально. Напротив, введение трансгенов той же специфичности сингенным мышам (генотип H-2K^a) приводит к нормальному образованию пре-B-клеток, но полностью блокирует формирование незрелых B-клеток, имеющих проверхностные анти-H-2K^a IgM. Эти эксперименты ясно показывают, что формирование поверхностного IgM, специфичного к собственным клеточным антигенам, является запрещенным событием. Клоны B-клеток, несущих подобные иммуноглобулины, элиминируются посредством апоптоза.

Ситуация несколько меняется, когда незрелые B-клетки распознают растворимые формы антигена. У мышей, которым одновременно интродуцировали гены, контролирующие синтез лизоцима кур, и реорганизованные гены, ответственне за синтез иммуноглобулинов, специфичных к лизоциму, происходит нормальное образование IgM$^+$ B-клеток. Несмотря на присутствие антигенраспознающего рецептора на клеточной поверхности такие B-клетки оказываются арективными к антигену, с которым они познакомились в процессе своего развития (табл. 3.3).

Таблица 3.3.

Интродукция мышам трансгенов, контролирующих специфические IgM

Этапы дифференцировки					
Трансгены, контролирующие специфические иммуноглобулины	**Мыши-реципиенты (гаплотип)**	**Пре-B-клетки**	**Незрелые B-клетки**	**Зрелые B-клетки**	**Результат**
IgM анти-H-2K^a	H-2K^b	+μ	+IgM	+IgM, +IgD	Миграция на периферию
IgM анти-H-2K^a	H-2K^a	+μ	–	–	Апоптоз
IgM антилизоцим и лизоцим		+μ	+IgM	–	Анергия

3.4. В-клетки периферии

Оставшаяся после отрицательного отбора на аутореактивность часть популяции незрелых В-клеток подвергается дальнейшему развитию на периферии. Наивные, еще не встречавшиеся с чужеродным антигеном, В-клетки мигрируют по кровеносным сосудам в периферические лимфоидные органы. Здесь они формируют первичные фолликулы лимфатических узлов и селезенки, являющиеся составной частью так назваемой В-зоны этих органов. Часть В-клеток мигрирует в лимфоидную ткань, ассоциированную с кишечником, известную как пейеровы бляшки. В этой лимфоидной ткани концентрируются в основном В-клетки, продуцирующие секреторный IgA. Мигрирующие на периферию В-клетки не остаются на месте постоянно и по истечении определенного времени пребывания in situ, если не произошло их стимуляции антигеном, вступают в процесс рециркуляции.

Основной фенотип большинства зрелых В-клеток неотличим от незрелых за исключением экспрессии иммуноглобулиновых рецепторов (IgM – у незрелых В-клеток, IgM и IgD – у зрелых В-клеток периферии).

Среди зрелых В-клеток имеется отличающаяся по ряду свойств субпопуляция, клетки которой характеризуются наличием специфического рецептора CD5 (табл. 3.4). $CD5^+$ В-клетки возникают в течение эмбриогенеза и остаются во взрослом состоянии благодаря способности к самообновлению. В постнатальный период формирование данного типа клеток от стволовой кроветворной клетки не происходит, а их присутствие у взрослых особей является своеобразной формой «онтогенетического атавизма». Одно из определяющих свойств данных клеток – это низкая специфичность их антигенраспознающих иммуноглобулиновых рецепторов и способность реагировать в основном с общими полисахаридными антигенами бактерий. Реакция на общие бактериальные антигены имеет значение в раннем периоде формирования иммунитета как один из способов срочной мобилизации антибактериальной защиты.

Таблица 3.4.

Сравнение свойств $CD5^+$ В-клеток и обычных В-клеток

Свойство	$CD5^+$ В-клетки	Стандартные В-клетки
Появление в эмбриогенезе	Рано	Поздно
Способность к обновлению	Самообновление	Замена мигрантами из костного мозга
Продукция иммуноглобулинов	Высокая	Низкая
Специфичность	Низкая	Высокая
Продукция изотипов	IgM >> IgG	IgG >> IgM
Ответ к углеводным антигенам	Происходит	Возможен
Ответ к белковым антигенам	Возможен	Происходит

***

В-система иммунитета включает костный мозг в качестве центрального органа системы; В-клетки, основное назначение которых – обеспечение потенциала к продукции специфических антител в случае антигенной агрессии; различные классы иммуноглобулинов (антител). Процесс образования клеток системы начинается на территории костного мозга. Здесь осуществляются пять этапов клеточного развития от стволовой кроветворной клетки до незрелого В-лимфоцита. Два завершающих этапа с формированием зрелых В-клеток и плазмацитов – активных продуцентов антител – проходят в периферической лимфоидной ткани. Каждый из этапов характеризуется набором специфических клеточных рецепторов и уровнем реорганизации иммуноглобулиновых генов.

Как и в случае с Т-клетками, в процесс становления В-клеточного пула включен механизм элиминации клонов, способных продуцировать иммуноглобулины, специфичные к собственным антигенам. Этот крайне важный процесс для нормального, полноценного функционирования В-системы реализуется в костном мозге.

Глава 4. Т-СИСТЕМА ИММУНИТЕТА

Т-система иммунитета включает: тимус – место дифференцировки костномозговых предшественников Т-клеток (пре-Т-клеток) до потенциально зрелых форм, различные субпопуляции собственно Т-клеток (*Т-хелперы, Т-киллеры*); группу цитокинов, продуцируемых этими клетками. Основная функция системы связана с обеспечением клеточной формы иммунного реагирования – цитотоксическим (киллерным) разрушением генетически отличающихся клеток и тканей (чужеродных трансплантатов, раковых и вирустрансформированных клеток), а также с участием в регуляции как клеточного, так и гуморального иммунного ответа посредством включения в иммунный процесс Т-хелперов, Т-супрессоров и Т-клеточных цитокинов.

Т-клетки имеют следующие особенности.

1. Клональная организация Т-клеточного пула – способность потомков одной клетки (клона) реагировать только на один из множества антигенных пептидов; данное свойство Т-клеток является общим с В-клетками.

2. Характер распознавания чужеродного антигена; в отличие от поверхностных иммуноглобулинов В-клеток, которые распознают собственно антигенный эпитоп, антигенраспознающий рецептор Т-клеток (ТКР – Т-клеточный рецептор) взаимодействует с комплексом, состоящим из антигенного пептида (эпитопа) и молекулы МНС (от англ. major histocompatibility complex – главный комплекс гистосовместимости).

3. Деление на субпопуляции: Т-киллеры/супрессоры и Т-хелперы/Т-клетки воспаления.

В данной главе основное внимание будет обращено на вопросы структуры и генетического контроля ТКР, формирования и характера взаимодействия ТКР с антигенным пептидом, образования клоноспецифических Т-клеток, субпопуляций этих клеток и роли тимуса в процессах Т-клеточной дифференцировки.

4.1. Антигенраспознающие рецепторы Т-клеток

Изучение проблемы распознавания антигена В-клетками не вызвало особых экспериментальных осложнений. Легкость обнаружения мембранного иммуноглобулина у данного клеточного типа давала в руки исследователей основу для детального анализа явления. При этом поиск аналогичных структур у Т-клеток столкнулся с определенными трудностями. Использование тех же экспериметальных подходов, которые применялись при изучении антигенных рецепторов у В-клеток, не привело к положительным результатам. Первые шаги к решению проблемы были сделаны, как это ни странно, не в молекулярной иммунологии, а в клеточной – в экспериментах с генетически отличающимися клетками, взаимодействующими in vitro.

Первоначально в гипотетической, на основании клеточной феноменологии, а затем в экспериментально хорошо документированной форме с использованием методов молекулярной биологии было установлено, что Т-клеточный рецептор распознает не собственно чужеродный антиген, а его комплекс с белками, контролируемыми главным комплексом гистосовместимости.

Особенности распознавания антигена Т-клетками и структурные характеристики собственно Т-клеточных рецепторов (ТКР) обязывают не только дать описание антигенраспознающих молекул, их структуры и генетического контроля, но и представить данные о генетической организации и фенотипических продуктах МНС, а также рассказать об участии молекулярных структур комплекса в представлении чужеродного (экзогенного) антигена в иммуногенной форме для антигенных рецепторов Т-клеток.

4.1.1. Главный комплекс гистосовместимости: генетическая организация и основные белки комплекса

Главный комплекс гистосовместимости был открыт в связи с разработкой вопросов внутривидовой пересадки тканей, отсюда и его название. Комплекс расположен у человека на 6-й, а у мышей – на 17-й хромосоме и занимает значительный участок ДНК, включающий до $4 \cdot 10^6$ пар оснований или около 50 генов. Основной особенностью комплекса является как его значительная *полигенность* – наличие нескольких неаллельных генов, белковые продукты которых сходны в структурном отношении и выполняют идентичные функции, так и ярко выраженный *полиморфизм* – присутствие многих аллельных форм одного и того же гена. Все гены комплекса наследуются по кодоминантному типу. Полигенность и полиморфизм определяют антигенную индивидуальность особей данного вида.

Все гены комплекса делятся на три группы. Каждая группа включает гены, контролирующие синтез полипептидов одного из трех классов (рис. 4.1). У мышей гены H-2K, -D и -L, у человека – HLA-A, -B и -C ответственны за образование тяжелой цепи (α-цепи) молекул I класса. Дополнительный однодоменный пептид, ассоциированный с основной цепью, – β_2-микроглобулин (β_2-М), контролируется геном, не входящим в комплекс. У человека этот ген расположен на

15-й, а у мышей – на 2-й хромосоме. Группа генов II класса ответственна за синтез α- и β-цепей антигенов данного класса. α- и β-Гены объединены в близкосцепленные пары для каждого определенного антигена II класса: А и Е – у мышей; DP, DQ и DR – у человека. Кластер DR включает дополнительный β-ген, что обеспечивает образование двух антигенов DR – $\alpha\beta_1$ и $\alpha\beta_2$. Кроме того, к классу II относятся пары генов LMP и TAP. Низкомолекулярные белки, контролируемые этими генами, принимают участие в подготовке чужеродного антигена к презентации Т-клеткам (об этом подробнее см. в данной главе). Кроме функционально хорошо описанных генов I класса имеются гены того же класса (HLA-X, -E, -J, - H, -G, -F), предназначение которых пока неизвестно.

Гены класса III контролируют синтез белков, некоторые из них принимают участие в иммунных процессах: один из компонентов комплемента, фактор некроза опухолей (ФНО-α и ФНО-β). Здесь же локализованы гены, контролирующие образование ряда ферментов синтеза стероидов.

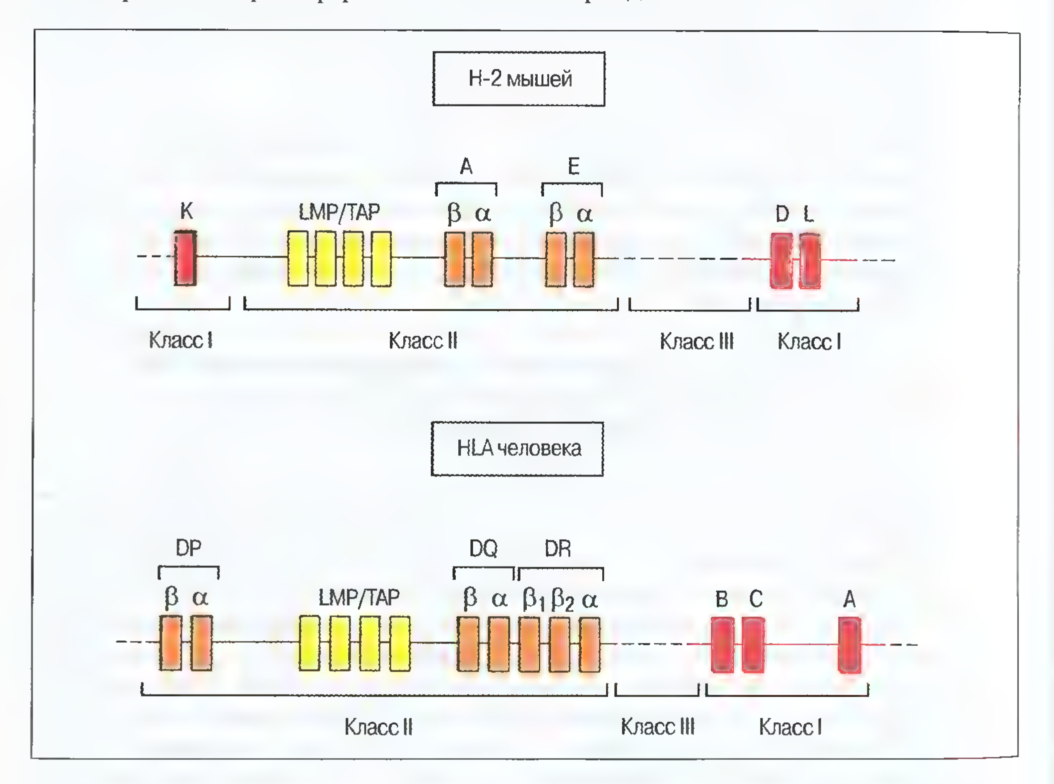


Рис. 4.1. Генная организация главного комплекса гистосовместимости у мышей и человека

Главный комплекс гистосовместимости как у мышей, так и у человека включает три группы генов: 1) гены, контролирующие молекулы I класса (H-2K, H-2D и H-2L у мышей и HLA-A, B, C у человека); 2) гены, контролирующие молекулы II класса (α- и β-цепи молекул А и Е у мышей и DP, DQ, DR – у человека), к этой же группе генов относятся LMP и TAP, контролирующие соответствующие белки, которые участвуют в процессе образования комплекса антигенного пептида с молекулами МНС; 3) гены III класса ответственны за синтез одного из компонентов системы комплемента, фактора некроза опухолей α и β, ферментов, участвующих в синтезе гормонов

Наличие в МНС генов, большинство из которых кодирует иммунологически значимые полипептиды, заставляет думать, что этот комплекс эволюционно возник и развивался специально для осуществления иммунных форм защиты.

Наиболее важными в иммунологическом смысле гликопротеинами, контролируемыми комплексом, являются антигены I и II классов.

Молекулы I класса экспрессируются на клеточной проверхности и представляют собой гетеродимер, включающий тяжелую α-цепь и однодоменный β_2-микроглобулин, нековалентно связанный с основным полипептидом. Методами рентгеноструктурного анализа выяснена пространственая организация этого антигена (рис. 4.2). Тяжелая цепь включает три домена: α_1, α_2 и α_3. Конформация α_3 и β_2-микроглобулина напоминает складчатую структуру доменов иммуноглобулинов.

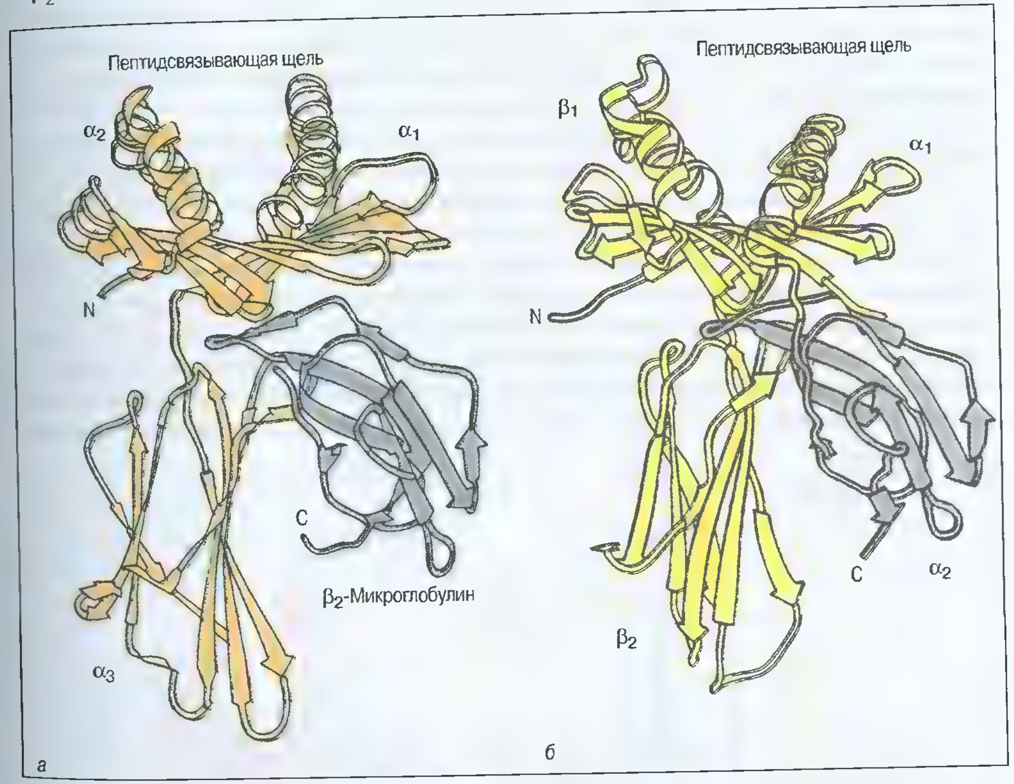


Рис. 4.2. Структура молекул I и II классов главного комплекса гистосовместимости

Методами рентгеноструктурного анализа выяснена структура молекул I и II классов главного комплекса гистосовместимости. *а* – молекула I класса состоит из тяжелой цепи, включающей три домена (α_1, α_2 и α_3), и одной легкой цепи – β_2-микроглобулина. Связывание антигенного пептида молекулой I класса происходит в антигенсвязывающей щели, образованной α-спиральными участками α_1- и α_2-доменов; *б* – молекула II класса представляет собой гетеродимер, состоящий из двух нековалентно связанных цепей: α и β, каждая из которых включает два домена: α_1, α_2 и β_1, β_2 соответственно. Антигенсвязующая область, так же как и у молекул I класса, образована α-спиральными участками. В построении этой области принимают участие α_1- и β_1-домены. Между молекулами I и II классов видно структурное сходство: однотипная пространственная организация, общее количество доменов, принцип построения антигенсвязующей области

Основное свойство антигенов I класса – связывание пептидов и представление их в иммуногенной форме для Т-клеток. Процесс связывания зависит от двух доменов – α_1 и α_2. Эти домены имеют значительные α-спиральные участки, которые при взаимодействии между собой образуют щель – место связывания пептидов. Собственно комплекс пептида с α_1- и α_2-доменами определяет иммуногенность экзогенного антигена, его возможность взаимодействовать с антигенраспознающими рецепторами Т-клеток.

Молекулы II класса также являются гетеродимерами, построенными из нековалентно сцепленных α- и β-цепей, каждая из которых включает по два домена ($\alpha_1\alpha_2$ и $\beta_1\beta_2$ соответственно). Антигенсвязующая область, подобно антигенам I класса, формируется α-спиральными участками взаимодействующих цепей – доменами α_1 и β_1. Общее структурное сходство между двумя классами антигенов очевидно. Это – однотипность пространственной организации всей молекулы, количество доменов, равное четырем, конформационное строение антигенсвязующего участка, близкая молекулярная масса – около 44–49 кДа.

Наряду с полигенностью МНС характеризуется крайне выраженным полиморфизмом (рис. 4.3). Ни одна другая генетическая система организма не имеет такого количества аллельных форм определенного гена, как МНС. У человека наибольшее число аллельных вариантов (от 20 до 72) известно для генов I класса и DP_β-, DQ_β- и DR_β-генов II класса. Гены, контролирующие α-цепь антигенов II класса, характеризуются меньшой изменчивостью, а у гена DR_α она по неизвестным причинам вообще отсутствует. Гомологом такого инвариантного гена у мышей является E_α. Число аллелей различных генов, представленное на рис. 4.3, выявлено для кавказской популяции (белой расы). Индейцы Америки и коренное население Востока имеют дополнительные аллели. Крайне высокий уровень аллельных генов и доминирую-

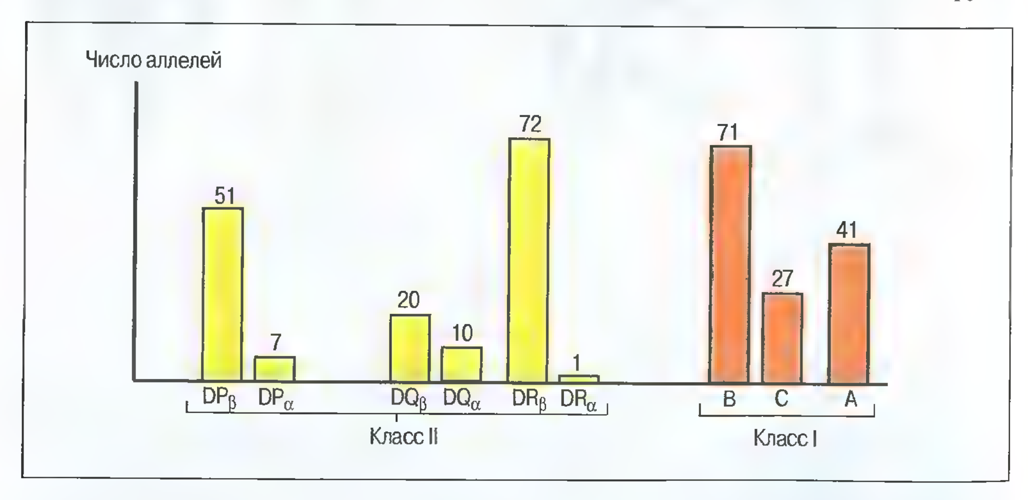


Рис. 4.3. Число аллельных форм молекул I и II классов главного комплекса гистосовместимости у человека

Видно, что среди молекул II класса наибольшей вариабельностью обладают DP_β и DR_β. DR_β вообще не имеет аллельных форм. Наибольшая вариабельность среди молекул I класса характерна для полипептида В, хотя полипептиды А и С также обладают значительным числом аллельных вариантов

щее присутствие в популяции гетерозигот при условии кодоминантного наследования обусловливают индивидуальность особей вида по антигенам МНС.

Долгое время биологический смысл столь выраженного полиморфизма оставался непонятным, хотя какое-то (?) селективное значение такой аллельной изменчивости было очевидным. В последние несколько лет доказано, что подобный полиморфизм прямо связан с процессом презентации антигенных эпитопов Т-клеткам.

Аллельные формы антигенов МНС могут отличаться друг от друга по 20 аминокислотным остаткам. Большинство из аминокислотных замен локализовано в N-концевой части молекул и главным образом в доменах, формирующих антигенсвязующий участок (рис. 4.4). Именно в этой изменчивости аминокислотной последовательности антигенсвязующего участка заключена потенциальная возможность взаимодействовать с различными пептидами.

С полиморфизмом антигенов МНС связано такое явление, как генетический контроль иммунного ответа. В тех случаях, когда аминокислотные остатки, образующие щель у антигенов II класса, не в состоянии связать пептидный фрагмент чужеродного антигена, Т-хелперы остаются ареактивными и их помощь В-клеткам не реализуется. Это обстоятельство и является причиной генетически детерминированного дефекта в иммунном реагировании.

Основные события, которые привели к формированию разнообразия генов МНС в процессе эволюции, связаны с тандемными дупликациями, точечными мутациями, рекомбинацией и конверсией генетического материала. Тандемные дупликации – процесс повторения исходного гена на той же самой хромосоме – хорошо известены для многих генетических систем, контролирующих синтез белков, например иммуноглобулинов. Именно в результате этого процесса возникло

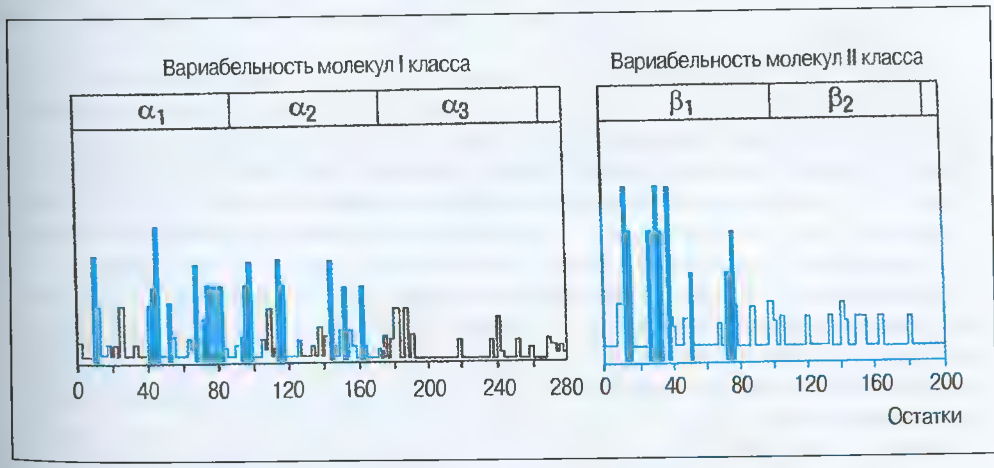


Рис. 4.4. Вариабельные положения в последовательности аминокислотных остатков молекул I и II классов главного комплекса гистосовместимости

Аллельные варианты молекул I и II классов обусловлены заменами аминокислотных остатков, входящих в состав α_1- и α_2-доменов молекул I класса и β_1-домена молекул II класса. Именно эти домены формируют антигенсвязывающий участок. Голубые столбики – уровень вариабельности отдельных положений в α_1- и β_1-доменах соответственно; светлые столбики – то же для α_2- и β_2-доменов; вариабельность α_3 крайне низкая (на рисунке не обозначена)

несколько полигенных форм как антигенов I, так и II классов. Спонтанные замены отдельных нуклеотидов в процессе редупликации ДНК (точечные мутации) также хорошо известны, они приводят к формированию аллельных генов, которые определяют полиморфизм белков. Рекомбинации между отдельными участками гомологичных хромосом в процессе мейоза могут привести к обмену как целых участков этих хромосом, так и отдельных генов и даже частей генов. В последнем случае процесс называется генной конверсией. Мутации, рекомбинации и конверсия генов создают многообразие их аллельных форм и определяют полиморфизм антигенов МНС.

4.1.2. Иммуногенные формы антигена для Т-клеточных рецепторов

Если В-клетки способны распознавать свободные, не связанные с какими-либо другими белками антигены, то Т-клетки отвечают только на комплекс антигенных эпитопов с молекулами I или II классов МНС. Подготовка антигена к его распознаванию различными классами лимфоцитов начинается в фагоцитирующих клетках.

Большинство бактерий и одноклеточных, эукариотических паразитов в результате фагоцитоза оказываются включенными в фаголизосомы. В то же время основным местом внутриклеточной локализации вирусов является неструктурированная часть клетки – цитозоль.

Вирусные антигены в результате протеолиза в цитоплазме и последующего выхода на поверхность фагоцитирующей клетки в комплексе с молекулами I класса МНС становятся объектом распознавания цитотоксическими Т-лимфоцитами (синонимы: ЦТЛ, CD8 Т-клетки, Т-киллеры). Следствием такого распознавания является гибель инфицированной клетки.

В случае развития бактериальной инфекции или поражения организма одноклеточными паразитами стратегия иммунитета выглядит иначе. Для внутриклеточных патогенов, таких как микобактерии или возбудители чумы, в процесс уничтожения инфекционного агента вступают Т-клетки воспаления, имеющие маркер CD4 (T_H1). Эти клетки после распознавания бактериального антигенного эпитопа, комплексированного с молекулами II класса МНС, активируют макрофаги, зараженные бактериями, к внутриклеточному уничтожению (киллингу) возбудителя.

При инфицировании организма возбудителями, размножающимися вне клетки, в иммунный ответ вступают хелперные Т-клетки (T_H2), имеющие тот же маркер CD4, что и воспалительные Т-клетки. Функция клеток этой субпопуляции – активация В-клеток к продукции специфических иммуноглобулинов, которые нейтрализуют бактерии или их токсины.

Однако чтобы ЦТЛ, Т-клетки воспаления и хелперные Т-клетки вступили в ответ на бактериальные или вирусные антигены, необходима предварительная подготовка таких антигенов к распознаванию этими клетками.

Этапы внутриклеточной подготовки антигена к образованию комплекса пептида с молекулами I или II класса МНС. Для вирусных белков (антигенов), локализующихся в цитозоле, путь выхода на поверхность клетки в иммуногенной форме включает несколько последовательных этапов (рис. 4.5).

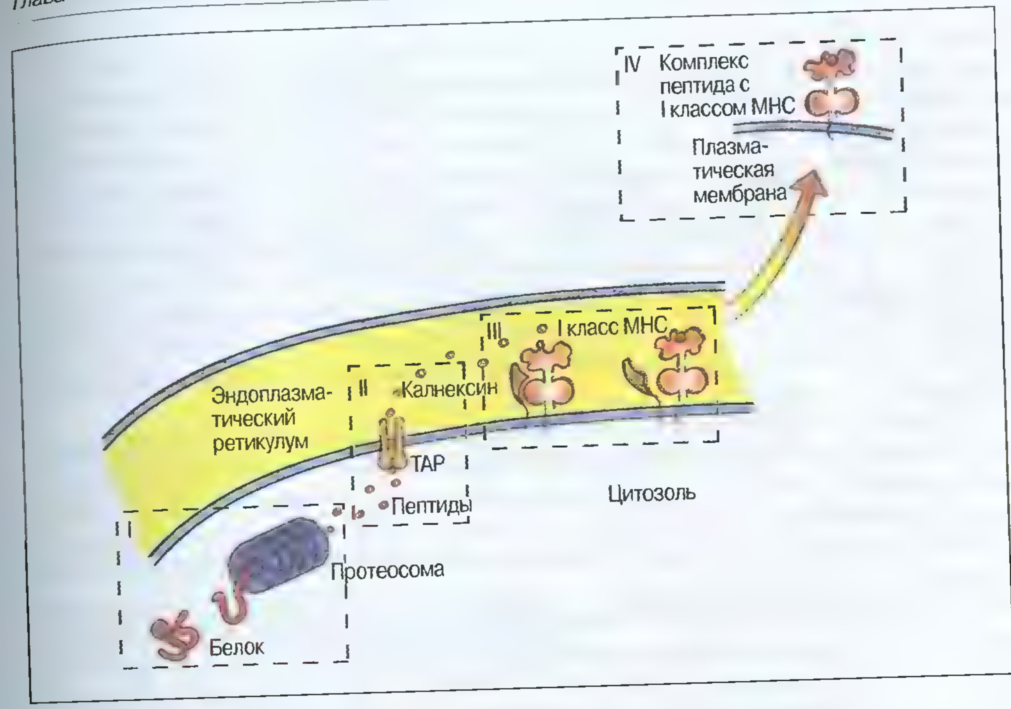


Рис. 4.5. **Этапы подготовки вирусных белков к взаимодействию с молекулами I класса главного комплекса гистосовместимости**

I этап – разрушение вирусных белков, находящихся в цитозоле, с помощью протеазного комплекса – протеосомы; II этап – транспорт образовавшихся пептидов во внутреннее пространство эндоплазматического ретикулума с помощью TAP-1 и TAP-2, образующих гетеродимер на эндоплазматической мембране; III этап – встреча транспортируемых пептидов с молекулами I класса МНС. Молекулы МНС стабилизированы специальным белком – калнексином. Взаимодействие пептида с молекулой I класса приводит к отсоединению калнексина. Образовавшийся комплекс пептид–молекула I класса МНС готов к дальнейшему транспорту к плазматической мембране; IV этап – завершающий этап процесса. Через аппарат Гольджи комплекс транспортируется к клеточной поверхности. Таким образом, вирусный пептид в комплексе с молекулой I класса МНС становится доступным (иммуногенным) для его распознавания Т-клеточными антигенраспознающими рецепторами

Первый из них – разрушение белковой молекулы до отдельных пептидов. Этот процесс осуществляется с помощью большого каталитического протеазного комплекса, получившего название – протеосома. Комплекс включает 28 субъединиц с молекулярной массой каждого 28–30 кДа. Субъединицы формируют цилиндр, который состоит из четырех колец. Каждое кольцо, в свою очередь, включает семь субъединиц. Особенностью протеосом, подготавливающих антиген к взаимодействию с молекулами I класса МНС, является наличие в их составе двух субъединиц, которые кодируются генами LMP (от англ. low molecular weight protein), локализованными в МНС (см. рис. 4.1).

Образовавшиеся в цитозоле пептидные фрагменты должны проникнуть во внутреннее пространство эндоплазматического ретикулумя для встречи с молекулами I класса МНС. Такое проникновение пептидов на втором этапе развития

процесса осуществляется с помощью специальных белков: ТАР-1 и ТАР-2 (от англ. transporters associated with antigen processing-1 and -2). Каждый белок состоит из двух доменов: одного гибдрофобного трансмембранного домена и одного АТФ-связующего домена. Два белка образуют гетеродимер на эндоплазматической мембране. Именно гетеродимер является «воротами» для прохождения пептидов во внутреннее пространство эндоплазматического ретикулума.

Гены, кодирующие ТАР-1 и ТАР-2, как и LMP-гены, локализованы в МНС (см. рис. 4.1). Сам по себе факт знаменателен. Объединение в одном локусе генов для основных и вспомогательных белков, функция которых – переработка и презентация антигена для его распознавания различными типами Т-клеток, указывает на то, что МНС эволюционно возник специально для обеспечения этой функции.

В полости эндоплазматического ретикулума осуществляется встреча транспортируемых пептидов с молекулами I класса МНС. В результате постоянно идущего процесса – синтеза α-цепи и ее соединения с β_2-микроглобулином – образуется полноценная молекула I класса. Однако в таком нативном состоянии она нестабильна и быстро распадается на составляющие элементы. Молекула стабилизируется специальным белком – *калнексином* (от. англ. calnexin), молекулярная масса которого 68 кДа. Комплекс молекулы I класса с калнексином остается в полости эндоплазматического ретикулума до тех пор, пока не произойдет его встреча с антигенным пептидом. Факт взаимодействия комплекса с пептидом приводит к отрыву калнексина, что и завершает III этап процесса.

На заключительном IV этапе сформировавшийся новый комплекс пептид–молекула I класса транспортируется через аппарат Гольджи к клеточной поверхности.

Таким образом завершается весь процесс прохождения антигена из цитозоля через эндоплазматический ретикулум и аппарат Гольджи к клеточной поверхности, где он экспрессируется в иммуногенной, доступной для ЦТЛ форме.

Как отмечалось, большинство бактерий и одноклеточных паразитов, а также их токсины генерируют развитие гуморального иммунного ответа с обязательным включением в защитную реакцию CD4 Т-клеток. Эти клетки распознают комплекс чужеродного пептида с молекулами II класса МНС.

Весь процесс подготовки антигена к его распознаванию CD4 Т-клетками включает три этапа (рис. 4.6). На I этапе в результате эндоцитоза бактерии или их токсины оказываются заключенными в фагосомы. После слияния фагосом с лизосомами и образования фаголизосом захваченный материал подвергается гидролитическому расщеплению протеазами, которые действуют при низких значениях pH, характерных для этих органелл.

Параллельно на II этапе процесса во внутреннем пространстве эндоплазматического ретикулума происходит формирование молекул II класса МНС. Они защищены от случайного образования комплекса с пептидами внутриэндоплазматического пространства так называемой *инвариантной цепью (Ii-цепью)*. Комплекс молекулы II класса с инвариантной цепью покидает через аппарат Гольджи пространство эндоплазматического ретикулума. На этом этапе процесса комплекс заключен в самостоятельную вакуоль.

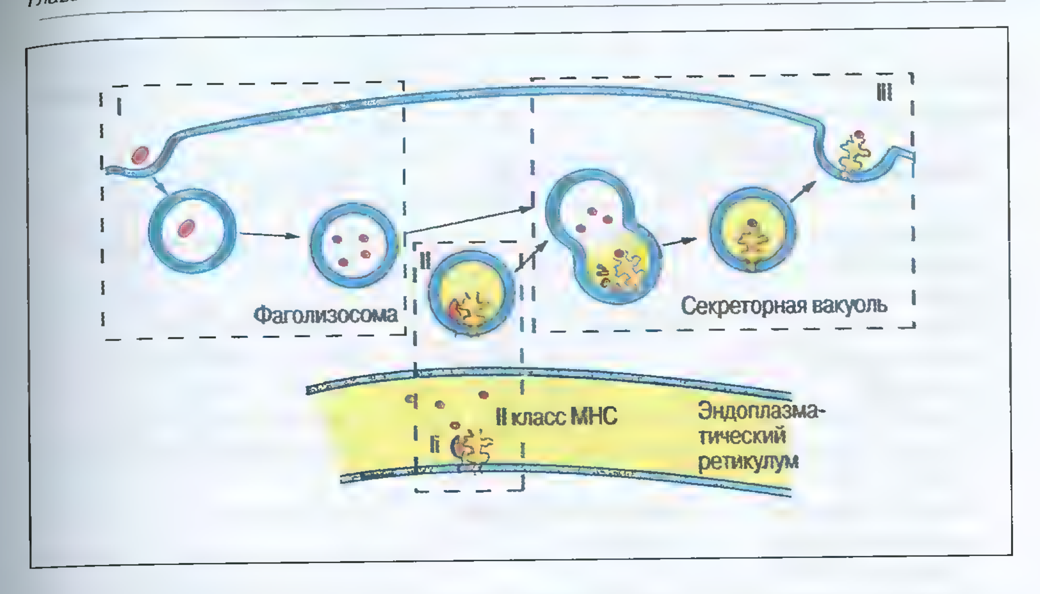


Рис. 4.6. **Этапы подготовки антигенов бактерий и их токсинов к взаимодействию с молекулами II класса главного комплекса гистосовместимости**

I этап – поглощение бактерий или их токсинов фагоцитирующей, способной к презентации антигена клеткой и разрушение захваченного материала до отдельных пептидов в фаголизосомах; II этап – во внутреннем пространстве эндоплазматического ретикулума происходит сборка молекул II класса, которые до встречи с пептидом комплексированы со специальным белком, получившим название инвариантной цепи (Ii). Этот белок защищает молекулу II класса от случайной встречи с бактериальными пептидами в эндоплазматическом ретикулуме. Комплекс молекулы II класса с Ii покидает эндоплазматический ретикулум в составе вакуоли; III этап – вакуоль, содержащая комплекс молекулы II класса с Ii, сливается с фаголизосомой. Кислые протеазы фаголизосом разрушают белок Ii и таким образом снимают запрет на взаимодействие молекул II класса с бактериальными пептидами. Образовавшийся новый комплекс пептид–молекула II класса в составе секреторной вакуоли перемещается к мембране клетки. Результатом всех этих процессов является экспрессия чужеродного пептида в комплексе с молекулой II класса на клеточной поверхности, что и обеспечивает доступность бактериального пептида для антигенраспознающих рецепторов Т-клеток

На III этапе происходит слияние фаголизосомы, в которой находятся пептидные фрагменты и набор кислых протеаз, с вакуолью, содержащей комплекс молекула II класса–инвариантная цепь. Протеазы, оказавшись в единой вакуоли с комплексом, начинают процесс расщепления инвариантной цепи, что создает условия для снятия «конформационного запрета» на взаимодействие молекулы II класса с пептидом. Дальнейшая активность кислых протеаз полностью разрушает инвариантную цепь, а образовавшийся новый иммуногенный комплекс пептида с молекулой II класса МНС в составе секреторной гранулы перемещается к клеточной поверхности.

В табл. 4.1 представлены особенности подготовки антигенов для молекул двух разных классов МНС. Сравнительные данные указывают, что клеточные и молекулярные механизмы переработки антигеннного материала для его взаимодействия с молекулами I и II классов значительно отличаются друг от друга.

Таблица 4.1.

Особенности подготовки антигена к взаимодействию с молекулами I и II классов главного комплекса гистосовместимости

Признак	Молекулы I класса	Молекулы II класса
Основной объект гидролитического разрушения	Вирусы	Бактерии, одноклеточные паразиты
Локализация и размножение патогенов	Цитозоль	Экстрацеллюлярное пространство, фагосомы
Протеолиз патогенов	Протеосомы	Протеаза фаголизосом
Белки-стабилизаторы молекул МНС	Калнексин	Инвариантная цепь (Ii-цепь)
Место образования комплекса пептида с молекулами МНС	Эндоплазматический ретикулум	Фаголизосома
Транспорт комплекса пептид–молекула МНС	Через аппарат Гольджи в составе секреторной гранулы	Минуя аппарат Гольджи в составе секреторной гранулы

Взаимодействие антигенных пептидов с молекулами I и II классов МНС. При использовании рентгеноструктурного анализа удалось показать, что щель, образуемая α-спиральными последовательностями α_1- и α_2-доменов молекулы I класса и α_1- и β_1-доменов молекулы II класса, занята плотно упакованным пептидом. Площадь поверхности комплекса, которая контактирует с Т-клеточным антигенраспознающим рецептором, составляет около 600 $Å^2$.

Несмотря на значительный полиморфизм и полигенность молекул МНС, каждая конкретная клетка, в которой происходит переработка антигена, обладает ограниченным количеством вариантов этих молекул. При этом количество пептидов, образующихся в результате протеолиза чужеродных антигенов, велико. В связи с этим возникает естественный вопрос: каким образом строится специфичность комплекса пептид–молекула МНС? Строгая конформационная специфичность, известная для взаимодействия антител или иммуноглобулиновых рецепторов с антигеном, в данном случае не может проявиться в силу ограниченности вариантов молекул I и II класса в клетке конкретного индивидуума. Изучение различных комплексов пептидов с молекулами МНС при их кристаллизации помогло выяснить картину связывания ограниченного числа молекул I и II классов МНС с различными фрагментами антигенов.

Антигенные пептиды (Т-клеточные эпитопы), которые образуют связь с молекулами I класса МНС, обычно включают 8–10 аминокислотных остатков. N- и C-концевые аминокислоты таких пептидов взаимодействуют с инвариантными аминокислотными остатками, входящими в состав антигенсвязующего желобка молекулы I класса МНС. В зависимости от длины пептида возможен их изгиб в той или иной степени. Аллельные варианты молекул I класса взаимодействуют с

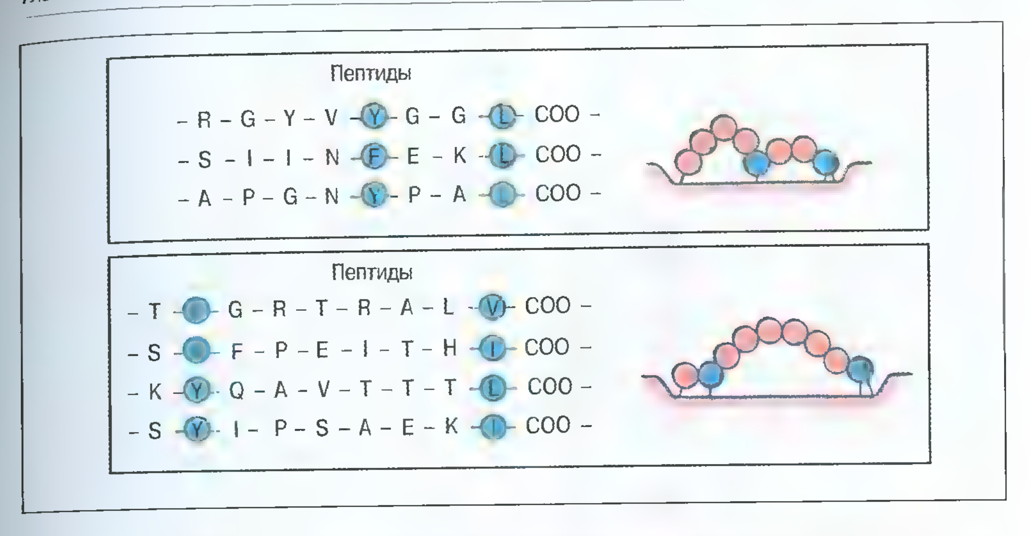


Рис. 4.7. Специфика взаимодействия антигенных пептидов с молекулами I класса главного комплекса гистосовместимости

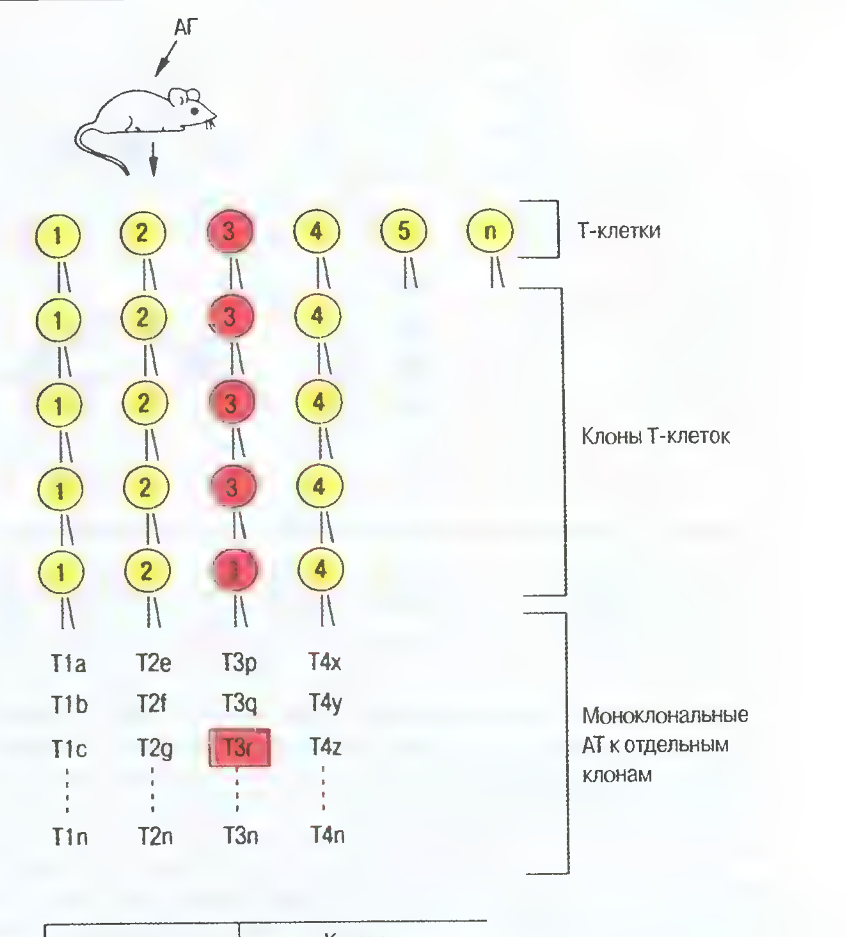
С каждой аллельной формой молекулы I класса взаимодействует определенное число близких, хотя и неидентичных пептидов (панель 1 или 2; представлены пептиды, способные взаимодействовать с молекулой I класса одного из гаплотипов). Взаимодействие таких пептидов происходит через относительно инвариантные гидрофобные аминокислотные остатки, получившие название якорных остатков (синие кружки), которые образуют ковалентную связь с реактивными группами антигенсвязующего участка молекулы I класса. Поскольку расстояние между реактивными группами антигенраспознающего участка может быть короче длины пептида между якорными остатками, то возможна разная форма изгиба у взаимодействующего пептида. Возникающая форма изгиба в линейной последовательности аминокислотных остатков пептида собственно и распознается рецептором Т-клеток

разными пептидами. В то же время молекулы одной определенной аллели взаимодействуют со сходными, хотя и неидентичными пептидами. Сходство пептидов определяется в первую очередь наличием так называемых *якорных участков* — гидрофобных аминокислотных остатков, расположенных у разных пептидов в тех же самых положениях (рис. 4.7).

Пептиды, которые связываются молекулами II класса МНС, имеют большую длину и включают по крайней мере 13 аминокислотных остатков. Они располагаются в виде вытянутого отрезка в щели, образованной α-спиральными последовательностями α_1- и β_1-цепей. В отличие от молекул I класса инвариантные аминокислотные остатки антигенсвязующего желобка молекул II класса не образуют связи с концевыми аминокислотами пептидов. Однако якорные взаимодействия, очевидно, существуют, хотя молекулярная природа таких взаимодействий еще не понята.

4.1.3. Строение и генетический контроль Т-клеточных антигенраспознающих рецепторов

Попытки выявить Т-клеточные антигенраспознающие рецепторы (ТКР) с помощью антииммуноглобулиновых антител, как это было сделано при поиске антигенраспознающих структур у В-клеток, оказались безуспешными. Идентифициро-



Моноклональные АТ	Клоны			
	1	2	3	4
T3p	–	–	+	+
T3r	–	–	+	–
T4x	+	+	+	–

Отбор моноспецифического клона

Компоненты реакции	Результаты реакции
Клон 3 + T3p + А =	+
Клон 3 + T3r + А =	–
Клон 4 + T4x + А =	+

Доказательство наличия антиген-распознающего рецептора (ТКР) у клона по реакции задержки с антигеном

Рис. 4.8. Получение моноклональных антител, специфичных к Т-клеточному антигенраспознающему рецептору

На первом этапе работы от мышей, иммунизированных определенным антигеном (АГ), получали суммарную, недифференцированную популяцию Т-клеток, содержащую самые различные клоны (цифры 1–n). Второй этап состоял в выделении отдельных клонов Т-клеток, среди которых были и те, которые специфичны к использованному антигену (в качестве примера приведено четыре клона, один из которых – клон 3, специфически реагирует с антигеном). Третий этап работы включал получение моноклональных антител (мАТ) к антигенреактивному клону. Задача этого этапа – получение моноклональных антител, способных реагировать только с клоном, использованным для иммунизации, так как перекрестная реакция мАТ свидетельствует об общих специфичностях между антигенреактивным клоном и непримированными клонами (см. верхнюю таблицу). Отсутствие перекрестной реактивности таких мАТ указывает на наличие у положительно реагирующего примированного клона особой специфичности – предположительно антигенраспознающего рецептора. Подтверждением подобного предположения является реакция задержки взаимодействия мАТ с соответствующим клоном в присутствии использованного антигена (нижняя таблица). Получение мАТ к антигенраспознающему рецептору Т-клеток создало условия для полноценного его изучения

вать ТКР удалось только с применением моноклональных антител (мАТ) и клонированных линий Т-клеток. Некоторые клоноспецифические мАТ реагировали только с клонами, выделенными от предварительно иммунизированных животных. Внесение в культуру таких клонов соответствующих по специфичности мАТ подавляло способность клонированных Т-клеток распознавать антиген, использованный для иммунизации. Наличие подобных антигенспецифических мАТ обеспечило полноценное изучение антигенраспознающих структур Т-клеток, получивших название Т-клеточных рецепторов (рис. 4.8).

Каждая функционально зрелая Т-клетка имеет около $3 \cdot 10^4$ ТКР. Они представляют собой гетеродимер, построенный из α- и β-цепей, ковалентно связанных между собой цистеиновым мостиком. Каждая цепь состоит из вариабельного V-домена и константного С-домена, гомологичных соответствующим доменам иммуноглобулинов (рис. 4.9).

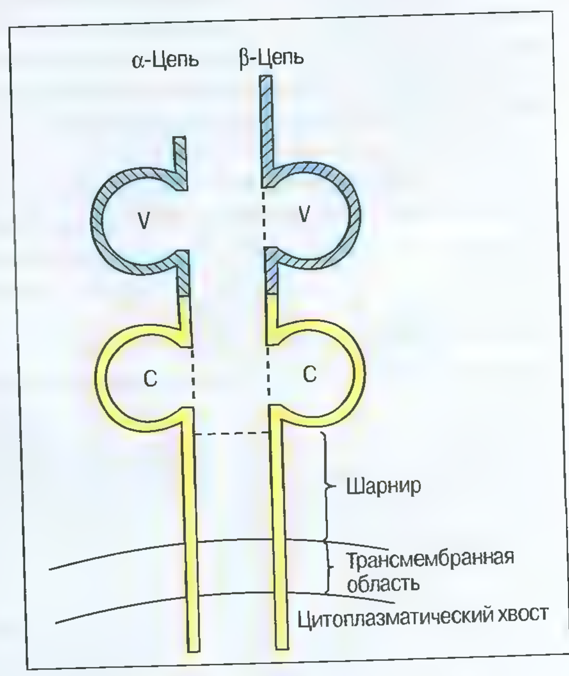


Рис. 4.9. Структура антигенраспознающего рецептора Т-клеток

Т-клеточный антигенраспознающий рецептор (ТКР) представляет собой гетеродимер составленный из α- и β-цепей. Каждая цепь включает два домена: вариабельный (V) и константный (С). Взаимодействующие V_{α}- и V_{β}-домены формируют антигенраспознающий участок ТКР. Помимо основных V- и С-доменов в структуре ТКР имеется шарнирная область с цистеиновым остатком, образующим ковалентную связь между α- и β-цепями, а также трансмембранный и короткий хвостовой участки

В структуре ТКР представлен также шарнирный домен с цистеиновым остатком, который образует дисульфидный мостик, объединяющий α- и β-цепи в единую молекулу. На клеточной мембране ТКР удерживается гидрофобной трансмембранной последовательностью аминокислотных остатков. Характерной чертой трансмембранного домена является присутствие в нем положительно заряженных аминокислотных остатков. Заканчивается каждая цепь коротким цитоплазматическим хвостом, погруженным в цитоплазму.

Отличие ТКР от иммуноглобулинового рецептора состоит в том, что он одновалентен, в то время как аналогичный рецептор В-клеток двухвалентен. Кроме того, ТКР не секретируется во внеклеточное пространство, что также отличает его от иммуноглобулинового рецептора. Однако все эти различия не могут считаться определяющими, так как основное свойство — построение активного антигенраспознающего участка за счет взаимодействия двух V-доменов — остается общим.

Генетический контроль структуры Т-клеточного антигенраспознающего рецептора. Организация генов, кодирующих α- и β-цепи ТКР, в основном гомологична той, которая известна для легких и тяжелых цепей иммуноглобулинов. V-домен β-цепи, подобно легкой цепи иммуноглобулинов, контролируется только V- и J-генными сегментами. В то же время образование V-домена β-цепи, как и тяжелой цепи иммуноглобулинов, обеспечено полным набором V-, D-, J-генных сегментов (рис. 4.10).

В геноме Т-клеток имеется более 100 V-генов для α-цепи ТКР, что в два с половиной раза меньше того количества, которое известно для легких цепей иммуно-

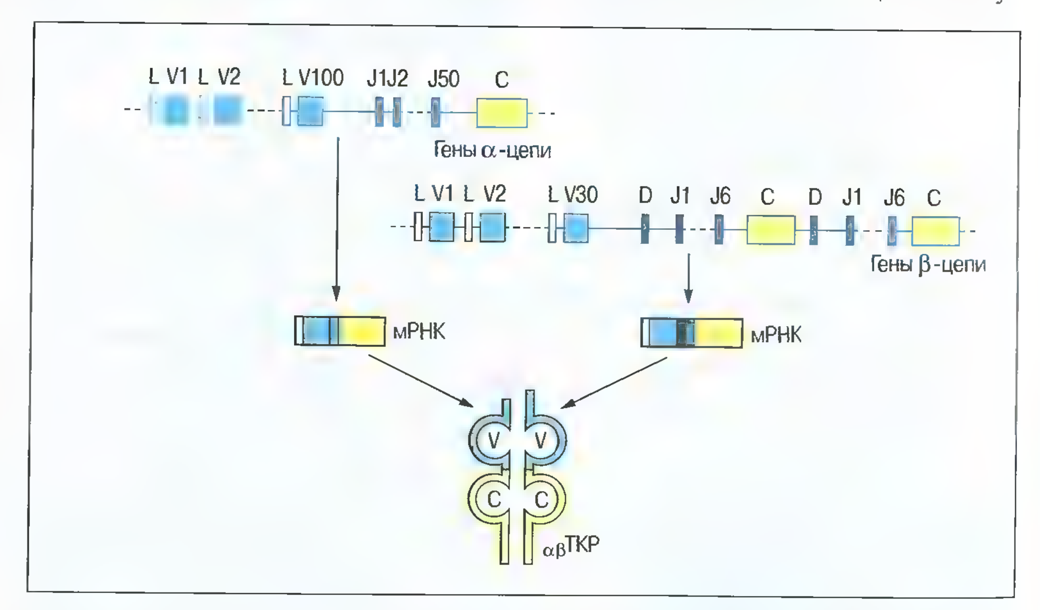


Рис. 4.10. Организация генов, контролирующих α- и β-цепи Т-клеточного рецептора

Принцип реорганизации генных сегментов, контролирующих α- и β-цепи ТКР тот же, что и для иммуноглобулинов. Отличие состоит в том, что локус для β-цепи имеет два идентичных кластера D-J-C. В чем заключается функциональное значение такого дублирования, неизвестно

ноглобулинов. Каждый такой ген включает два экзона: один для лидерной (L) последовательности, отсутствующей у зрелой α-цепи, но представленной у этой цепи в момент ее транспорта из эндоплазматического ретикулума к клеточной поверхности, и второй для кодирования собственно V-домена ТКР. J-генных сегментов для α-цепи значительно больше, чем для легкой цепи иммуноглобулинов (50 против 4). Константная область α-цепи контролируется С-геном, включающим отдельные экзоны для С-домена и шарнира, а также один общий экзон для трансмембранной и хвостовой частей молекулы.

Количество V-генов для β-цепи равно 30. Кроме того, имеются два кластера DJC. Каждый кластер включает один D- и шесть J-генных сегментов. Функциональные различия между кластерами неизвестны. С-ген для константной области β-цепи включает четыре экзона для константного, шарнирного, трансмембранного и хвостового участков полипептида.

Процессы рекомбинации, транскрипции, сплайсинга и трансляции генетического материала для α- и β-цепей при образовании ТКР в Т-клетках аналогичны тем, которые обеспечивают синтез иммуноглобулинов в В-клетках.

Как и в случае с иммуноглобулинами и иммуноглобулиновыми рецепторами, вариабельность ТКР зависит от случайного взаимодействия генных сегментов в процессе рекомбинации генетического материала, кодирующего V-домены: VJ для α-цепей и VDJ для β-цепей. Расчет вариабельности V-доменов ТКР, который проводится так же, как и для иммуноглобулинов, показывает крайне высокий уровень разнообразия этих антигенраспознающих структур (табл. 4.2). При общем сходстве организации и рекомбинации генетического материала для иммуноглобулинов и ТКР следует отметить и некоторые особенности в контроле специфичности этих молекул.

Таблица 4.2.

Вариабельность Т-клеточных рецепторов в сравнении с иммуноглобулиновыми рецепторами и иммуноглобулинами

Генные сегменты	Иммуноглобулины		Т-клеточный рецептор	
	Н-Цепь	κ-Цепь	β-Цепь	α–Цепь
V	500	250	30	100
D	15	–	2	–
J	4	4	12	50
Включение пограничных нуклеотидов	4	2	4	2
Число вариантов	120 000	2 000	2 880	10 000
Общая вариабельность	$2{,}4 \cdot 10^8$		$2{,}9 \cdot 10^7$	

Иммуноглобулины и иммуноглобулиновые рецепторы В-клеток распознают нативные антигенные эпитопы. В связи с этим отдельные участки антигенраспознающего центра имеют равные шансы на изменчивость. Ситуация с ТКР несколько иная, поскольку этот рецептор распознает комплекс антигенного пептида с молекулами МНС.

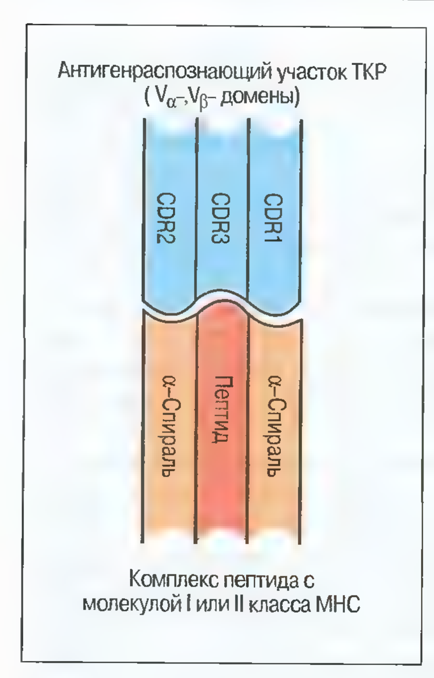


Рис. 4.11. Принцип структурных отношений между гипервариабельными участками Т-клеточного антигенраспознающего рецептора и комплексом пептид–молекулы главного комплекса гистосовместимости

Гипервариабельные области ТКР конформационно организованы так, что наиболее вариабельный регион (CDR3) локализован в середине антигенраспознающего участка. При этом распознаваемый пептид также находится в середине комплекса между α-спиральными последовательностями молекул МНС. Подобная конформационная особенность обеспечивает наиболее эффективное распознавание пептида в комплексе

Разнообразие ТКР связано в значительной степени с третьей петлей V-домена, формируемой третьим гипервариабельным участком – CDR3 (от англ. complementarity determining region). При образовании антигенсвязующего центра V-доменами α- и β-цепей CDR3 оказываются во внутренней части этого центра. Первая и вторая петли (CDR1 и CDR2 соответственно) занимают периферию центра. В таком конформационном построении имеется вполне определенный биологический смысл, связанный с адаптацией ТКР к той форме антигена, с которой он взаимодействует. Как уже отмечалось, антигенные пептиды заполняют пространство (щель), образованное α-спиральными структурами молекул МНС, и таким образом оказываются в середине антигенного комплекса пептид–МНС. Подобный комплекс характеризуется огромным множеством антигенных специфичностей, связанных с пептидами, и ограниченным разнообразием, свойственным молекулам МНС. В связи с подобной организацией иммуногенного комплекса следует ожидать повышенную изменчивость CDR3 и меньшую изменчивость CDR1 и CDR2. Изучение генетической организации генов для ТКР подтверждает подобную точку зрения. Так, ТКР имеет значительно меньшее по сравнению с иммуноглобулинами количество V-генов, определяющих специфичность CDR1 и CDR2, но при этом увеличенное число J-сегментов, принимающих участие в кодировании CDR3 (см. табл. 4.2). На рис. 4.11 представлена упрощенная схема, иллюстрирующая взаимодействие CDR3 с пептидом и CDR1 и CDR2 с α-спиральной последовательностью молекул МНС.

4.1.4. Антигенраспознающие рецепторы и сопутствующие белки в процессах активации Т-клеток

ТКР, как и мембранный, антигенраспознающий иммуноглобулин В-клеток, имеет очень короткий цитоплазматический хвост. В связи с этим сигнал от взаимодействия ТКР с комплексом пептид–молекулы МНС не может быть передан

внутрь клетки. Трансмиссивную функцию выполняют инвариантные, низкомолекулярные, ассоциированные с ТКР белки, которые получили общее название – CD3. Комплекс CD3 включает пять белков: три белка – CD3γ, CD3δ и CD3ε, представленных на клеточной поверхности и имеющих определенную гомологию с иммуноглобулинами, и два цитоплазматических белка – CD3ζ и CD3η, не имеющих такой гомологии (рис. 4.12).

Белки, гомологичные иммуноглобулинам, экспрессируются на клеточной поверхности в виде гетеродимеров CD3εδ и CD3εγ. Их связь с ТКР осуществляется посредством электростатического притяжения. Отрицательно заряженные трансмембранные участки цепей CD3 взаимодействуют с несущими положительный суммарный заряд трансмембранными участками ТКР. Наличие длинного хвоста позволяет им взаимодействовать с цитоплазматическими белками-трансдукторами после получения антигенного сигнала.

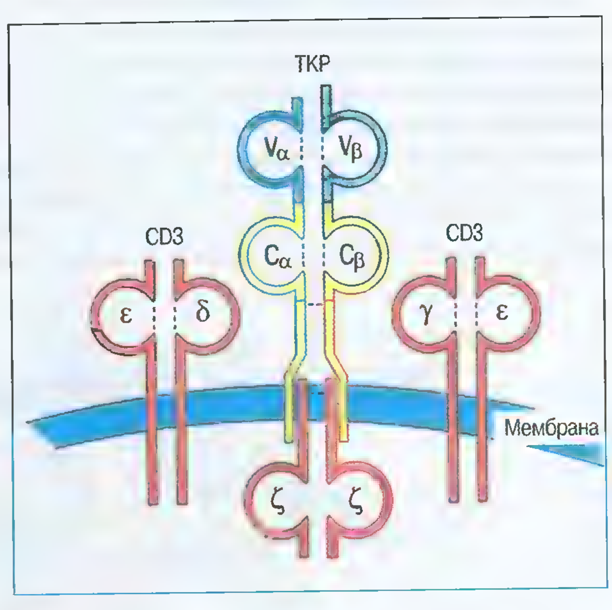


Рис. 4.12. Строение Т-клеточного антигенраспознающего комплекса

Комплекс включает Т-клеточный антигенраспознающий рецептор (ТКР) и пять однодоменных инвариантных белков: γ, δ, ε находятся на поверхности клетки, ζ и η погружены в цитоплазму (η не отмечен на рисунке), γ, δ, ε, имеющие удлиненный цитоплазматический хвост, служат для передачи сигнала внутрь клетки после взаимодействия ТКР с антигеном

Два других полипептида – CD3ζ и CD3η – также входят в состав комплекса в виде димеров ζζ или ζη. Около 80% ТКР ассоциировано с гомодимером и только 20% с гетеродимером. Функциональные различия между ними не известны. Основной домен этих белков в отличие от других CD3-белков находится в цитоплазме. Именно головная, а не хвостовая часть ζ и η взаимодействует в цитоплазме с белками-трансдукторами.

Помимо сигналпередающей функции, белки CD3 ответственны за транспорт ТКР к клеточной поверхности. У мутантных клеток, в которых отсутствует синтез γ-, δ- или ε-цепей, экспрессия ТКР полностью подавлена, хотя внутриклеточный синтез этих рецепторов не нарушен. При мутациях гена ζ-цепи выход ТКР на клеточную поверхность происходит в меньшей степени по сравнению с нормой.

Как трансмиссивная, так и транспортная функции CD3-белков гомологична той, которая характерна для Igα- и Igβ-белков иммуноглобулинового, антигенраспознающего комплекса.

В активации Т-клеток, распознавших антиген, также принимают участие CD4 и CD8 – маркеры дифференцировки Т-клеток. Как уже отмечалось, первый из них является маркером CD4 Т-клеток, второй – цитотоксических Т-лимфоцитов (CD8 Т-клеток). Долгое время функция этих белков оставалась неизвестной. Оказалось, что они принимают самое непосредственное участие в процессе взаимодействия ТКР с соответствующим лигандом в качестве корецептора.

CD4 представляет собой одноцепочечную молекулу, состоящую из четырех иммуноглобулинподобных доменов (рис. 4.13). Домены D_1 и D_2, а также D_3 и D_4 образуют между собой парные, плотноупакованные, жесткие структуры. Эти пары соединены гибким шарнирным участком. Хвостовая часть молекулы CD4 имеет достаточную длину для взаимодействия с цитоплазматическими белками-трансдукторами. На клеточной поверхности ТКР и CD4 представлены независимо друг от друга. Их встреча происходит в процессе формирования ответа на антиген. После распознавания ТКР антигенного комплекса происходит взаимодействие CD4 с молекулой II класса МНС. Реакция взаимодействия осуществляется между β_2-до-

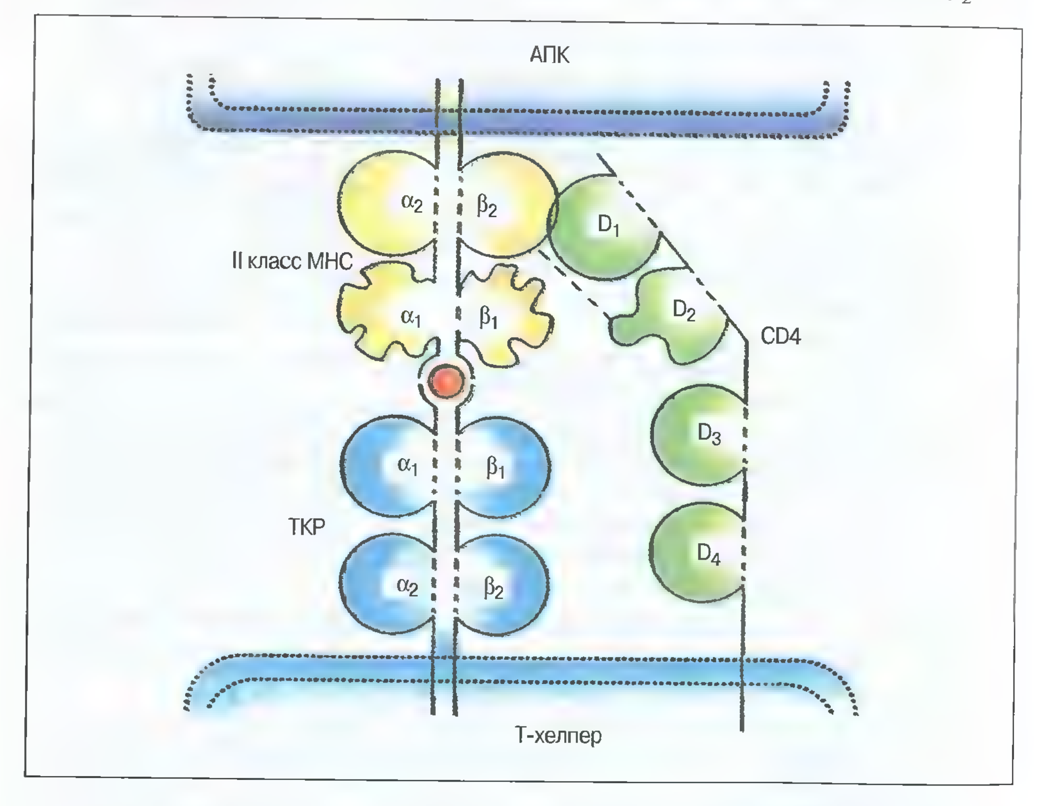


Рис. 4.13. Распознавание CD4 Т-клетками комплекса пептид–молекулы II класса

После распознавания ТКР комплекса пептид–молекула II класса МНС в реакцию взаимодействия вступает корецептор CD4. Взаимодействие происходит между β_2-доменом молекулы II класса и D_1-доменом корецептора CD4. Корецептор имеет достаточно длинный цитоплазматический хвост, который передает сигнал о взаимодействии ТКР с антигенным комплексом внутрь клетки

меном молекулы II класса MHC и первым доменом CD4. Предполагается также слабое включение во взаимодействие и второго домена – D_2.

Аналогичная картина наблюдается при распознавании антигенного комплекса цитотоксическими Т-лимфоцитами. Во взаимодействии участвуют: ТКР цитотоксических Т-лимфоцитов, комплекс пептида с молекулой I класса MHC и маркер цитотоксических Т-лимфоцитов – CD8 (рис. 4.14). CD8, хотя и выполняет сходную с CD4 функцию корецептора, структурно отличается от маркера Т-хелперов. Он представляет собой гетеродимер, каждая цепь которого включает один иммуноглобулинподобный домен и достаточно длинный, связанный с мембраной участок цепи, который подвержен значительным конформационным изменениям. Так же как и CD4, CD8 представлен на клеточной мембране независимо. Его функция корецептора реализуется в процессе антигенного распознавания. После

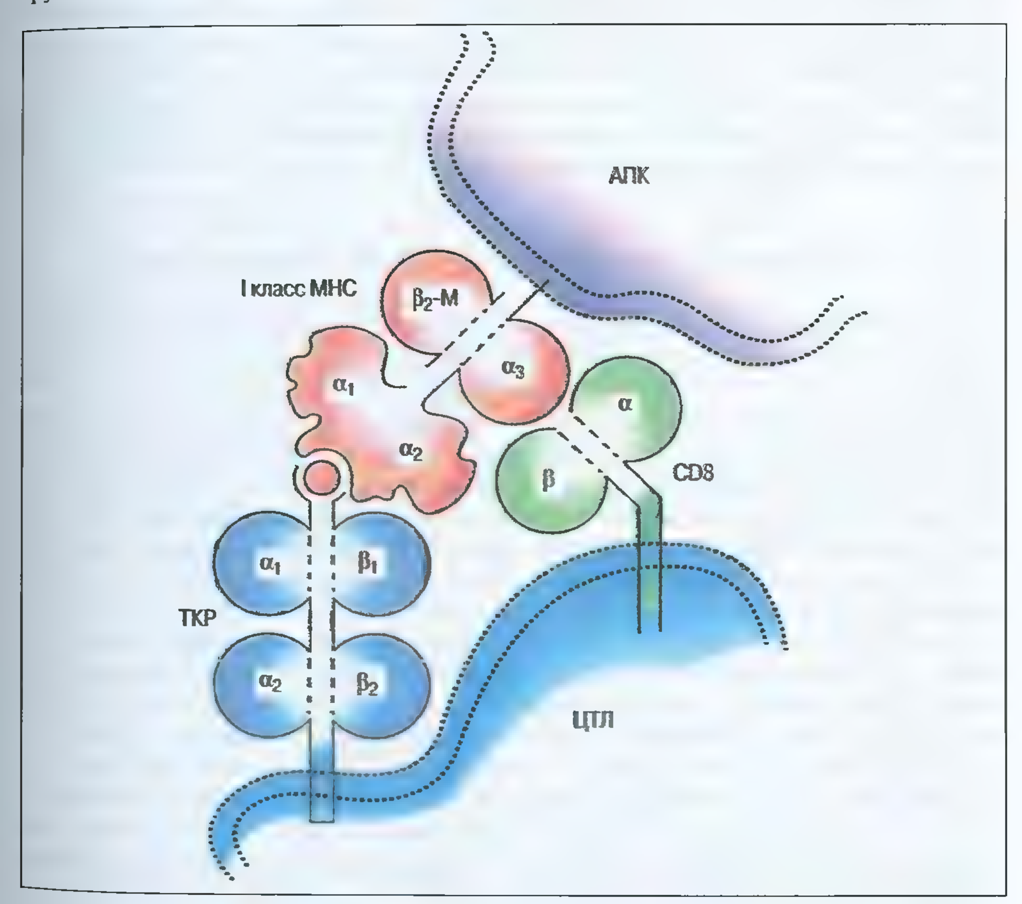


Рис. 4.14. Распознавание цитотоксическими Т-клетками (CD8 Т-клетками) комплекса пептид–молекулы I класса

В процесс распознавания вступают ТКР и корецептор CD8. CD8 взаимодействует своими α- и β-доменами с α_3-доменом молекулы I класса MHC. CD8, как и CD4, имеет относительно длинный цитоплазматический хвост, что позволяет ему передавать сигнал о взаимодействии внутрь клетки

взаимодействия ТКР с антигенным лигандом происходит контакт α- и β-доменов CD8 с α_3-доменом молекулы I класса MHC. Образовавшийся молекулярный комплекс является условием передачи через корецептор CD8 сигнала внутрь клетки.

Внутриклеточные события, определяющие активацию Т-клеток, аналогичны тем, которые происходят в В-клетках после антигенной стимуляции. Образовавшийся агрегат из антигенпредставляющих молекул MHC, Т-клеточного рецепторного комплекса, включающего CD3-молекулы, и CD4- или CD8-молекул провоцирует внутриклеточное взаимодействие различных тирозинкиназ с цитоплазматической частью полипептидов. Среди CD3-белков наибольшей связывающей активностью обладает CD3ζ, представленный в цитозоле не хвостовой, а головной частью. Активированные в результате взаимодействия киназы обеспечивают каскад реакций, следствием которых является индукция специфической транскрипции генов. Среди генов, вступивших в процесс транскрипции, особое место занимают те, которые кодируют синтез Т-зависимых цитокинов (в частности, ИЛ-2). В конечном счете цепь событий – от взаимодействия ТКР с антигенным комплексом и образования сложного молекулярного агрегата до внутриклеточных реакционных преобразований – приводит к пролиферации и дифференцировке Т-клеток до зрелых, функционально активных цитотоксических Т-лимфоцитов или Т-хелперов.

4.2. Тимус – центральный орган иммунитета

Представления о том, что тимус является одним из главных органов, определяющих формирование иммунной системы в целом и Т-системы в частности, стали складываться в начале 1960-х годов после опытов Дж. Миллера по неонатальной тимэктомии у мышей. Удаление тимуса у мышей сразу после рождения приводит: а) к резкому истощению популяции лимфоцитов в периферических органах; б) к более длительному выживанию аллогенных кожных трансплантатов; в) к нарушению образования антител. Кроме того, тимэктомированные животные характеризуются высокой смертностью в первые четыре месяца жизни, повышенной восприимчивостью к инфекциям, большей чувствительностью к действию эндотоксинов, склонностью к развитию опухолей.

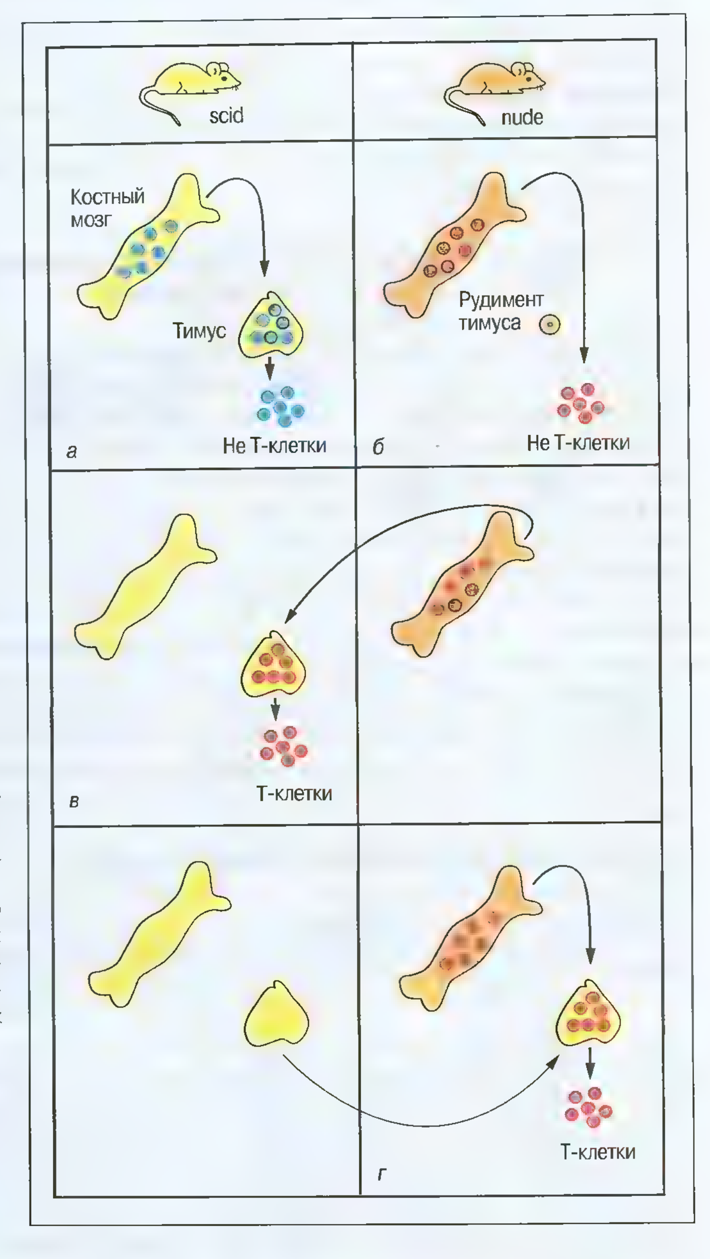
Иммунологическую реактивность можно восстановить пересадкой тимэктомированным мышам тимуса от молодых животных, а также введением клеток селезенки, лимфатических узлов или большого числа тимоцитов. Клетки костного мозга даже в очень значительных дозах неэффективны. Этот факт сам по себе примечателен, так как демонстрирует, что лимфоцитам костного мозга для выполнения утраченных при тимэктомии иммунологических функций необходим тимус.

Доказательством участия тимуса в становлении иммунной компетенции является синдром Ди Джоржи. Синдром характеризуется врожденным недоразвитием тимуса, что приводит к резкому снижению популяции Т-лимфоцитов. Дети с подобным иммунодефицитным заболеванием проявляют повышенную чувствительность к вирусным, грибковым и некоторым бактериальным инфекциям.

Критическая роль стромы тимуса продемонстрирована на двух мутантных линиях мышей: nude и scid, характеризующихся отсутствием зрелых Т-клеток.

Рис. 4.15. Значение эпителиального микроокружения тимуса для дифференцировки костномозговых предшественников до зрелых Т-клеток

а – мутантные мыши линии scid имеют полноценный тимус. Однако Т-клетки не образуются, так как имеется дефект рекомбинации генов для антигенраспознающих рецепторов; *б* – мутантные мыши линии nude также неспособны к формированию Т-клеток, но по причине отсутствия тимуса. У мышей этой линии обнаруживается только рудимент органа; *в* – трансплантация клеток костного мозга мышей линии nude мышам линии scid обеспечивает развитие Т-клеток. Опыт демонстрирует наличие у мышей линии nude полноценных костномозговых предшественников Т-клеток; *г* – при трансплантации мышам линии nude тимуса от мышей линии scid происходит восстановление образования Т-клеток у nude-хозяина. Эта форма трансплантации показывает роль эпителиального микроокружения тимуса для нормального развития костномозговых предшественников до зрелых Т-клеточных форм



Если дефицит Т-клеток у мышей линии nude связан с неспособностью эпителиальных клеток рудиментарного тимуса обеспечивать дифференцировку костномозговых предшественников до зрелых форм, то дефицит Т-клеток у мышей линии scid связан с дефектом процесса рекомбинации рецепторных генов. Трансплантация тимуса мышей линии scid мышам линии nude полностью восстанавливает дифференцировку костномозговых предшественников до зрелых

Т-клеток, так же как введение клеток костного мозга мышей линии nude мышам линии scid приводит к полноценному накоплению Т-клеток. Эта форма трансплантации ясно указывает, во-первых, на потенциальную способность костномозговых предшественников nude дифференцироваться в Т-клетки и, во-вторых, на необходимость эпителиального микроокружения тимуса для реализации такой способности (рис. 4.15).

4.2.1. Этапы внутритимусной дифференцировки лимфоцитов

Необходимость тимуса для накопления функционально зрелых Т-клеток на периферии и высокая гибель активнопролиферирующих тимоцитов in situ указывают на тот факт, что в тимусе происходят те основные события, которые определяют полноценность работы всей Т-системы. Подобная феноменология требовала выяснения, по крайней мере, двух вопросов: каков биологический смысл массовой гибели клеток в тимусе и как формируются субпопуляции клоноспецифических Т-клеток (Т-киллеров, Т-хелперов) в органе? Этапы внутритимусной дифференцировки клеток от мигрировавшего в орган костномозгового предшественника (пре-Т-клетки) до зрелого Т-лимфоцита, покидающего тимус, связаны с изменением экспрессии фенотипических, Т-клеточных маркеров. Основными из них являются: CD4 – корецептор Т-хелперов, CD8 – корецептор цитотоксических Т-лимфоцитов (ЦТЛ; Т-киллеров) и $_{\alpha\beta}$ТКР – Т-клеточный антигенраспознающий рецептор. Специфическая комбинация этих поверхностных молекул может быть использована в качестве маркеров дифференцировки клеток в тимусе (табл. 4.3).

Таблица 4.3.

Фенотипические маркеры дифференцирующихся тимоцитов

Этап	Маркеры		Тип дифференцирующихся тимоцитов
	корецепторы Т-клеток	Т-клеточный рецептор	
1	$CD4^{-}$ $CD8^{-}$	$ТКР^{-}$	Двойной негатив
2	$CD4^{\pm}$ $CD8^{\pm}$	$ТКР^{-}$	
3	$CD4^{+}$ $CD8^{+}$	$ТКР^{\pm}$	Двойной позитив
4	$CD4^{+}$ $CD8^{+}$	$ТКР^{+}$	Двойной позитив
5	$CD4^{+}$ CD^{-}	$ТКР^{+}$	Одинарный позитив
6	$CD4^{-}$ CD^{+}	$ТКР^{+}$	Одинарный позитив

Первые мигранты из костного мозга – пре-Т-клетки – представляют собой лимфобласты, имеющие определенный набор поверхностных молекул, но лишенных основных маркеров дифференцировки: CD4 и CD8 (рис. 4.16). Отсюда и их название *двойные негативы.* Они заселяют верхнюю часть коры тимуса, расположены непосредственно под капсулой органа – в *субкапсулярной области* (рис. 4.17). В полностью развитом тимусе двойные негативные клетки составляют незначительный, всего около 5% от общего числа тимоцитов клеточный пул.

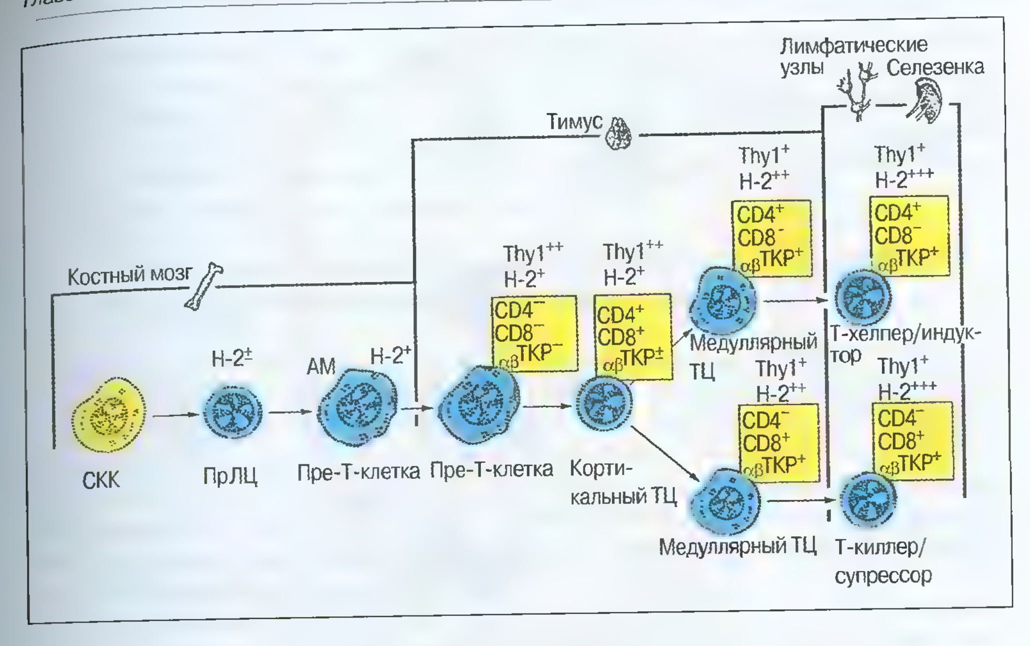


Рис. 4.16. Этапы антигеннезависимой дифференцировки Т-клеток

На первом этапе из плюрипотентной стволовой кроветворной клетки (СКК) костного мозга, обеспечивающей миело- и лимфопоэз, образуется общий для Т- и В-лимфоцитов предшественник (ПрЛЦ). Ближайшим потомком ПрЛЦ является протимоцит или коммитированный предшественник Т-клеток (пре-Т-клетка). Характерным маркером пре-Т-клеток костного мозга служит один из антигенов мозга (АМ). Первые мигрирующие в субкапсулярную область тимуса пре-Т-клетки теряют АМ, но приобретают типичный маркер тимоцитов и периферических Т-клеток – Thy1. Тимоциты субкапсулярной зоны являются в основном двойными негативами и не экспрессируют Т-клеточный рецептор (ТКР). Фенотип таких клеток CD4^{-}CD8^{-} $_{\alpha\beta}$ТКР$^{-}$. Постепенно по мере перемещения в корковый слой тимоциты начинают экспрессию корецепторов как CD4^{-}, так и CD8 , а также $_{\alpha\beta}$ТКР. Медуллярная зона тимуса – место локализации бластных форм с фенотипом, характерным для самостоятельных субпопуляций Т-клеток (CD4^{+}CD8^{-} $_{\alpha\beta}$ТКР$^{+}$ – Т-хелперы/индукторы; CD4 CD8^{+} $_{\alpha\beta}$ТКР$^{+}$ – Т-киллеры/супрессоры. С формированием различных субпопуляций завершается внутритимусная дифференцировка тимоцитов. Закончившие развитие тимоциты мигрируют в периферические лимфоидные органы (лимфатические узлы, селезенка и др.)

Взаимодействие раннего предшественника со стромой субкапсулярной области приводит к экспрессии первого специфического маркера Т-клеток – Thy-1 у мышей. Данная молекула обладает адгезивными свойствами и относится к суперсемейству иммуноглобулинов. Thy-1 является исключительным маркером Т-клеток мышей и сохраняется на всех стадиях дифференцировки данных клеток, хотя уровень его экспрессии у более зрелых тимоцитов и периферических Т-клеток снижен по сравнению с ранними предшественниками.

Тимоцитарные бласты субкапсулярной области, находясь в тесном контакте с эпителиальными клетками-кормилицами, активно пролиферируют и завершают свой путь развития в данной области умеренной экспрессией CD4 и CD8. Тимоциты с фенотипом CD4$^{\pm}$ CD8$^{\pm}$ $_{\beta}$ТКР$^{\pm}$ перемещаются в корковый слой.

Клетки коры – это в основном малые, плотно упакованные тимоциты. Они находятся в непосредственных контактных отношениях с кортикальными эпителиаль-

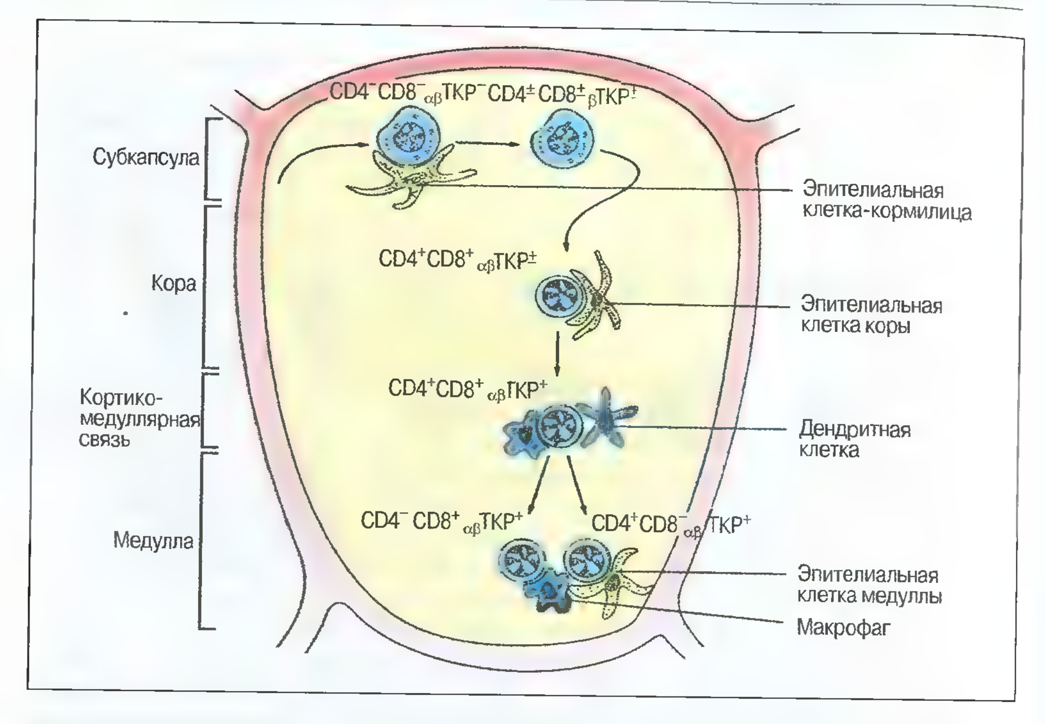


Рис. 4.17. Локализация дифференцирующихся тимоцитов в различных областях тимуса

Пре-Т-клетки, мигрирующие из костного мозга в тимус, заселяют субкапсулярную зону тимуса. Клетки этой стадии развития представляют собой наименее зрелые формы, не экспрессирующие ТКР и относящиеся к категории двойных негативов (фенотип $CD4^-CD8^-TKP^-$). В результате их взаимодействия с эпителиальными клетками-кормилицами, представленными в субкапсуле, начинается процесс внутритимусной дифференцировки. В промежуточной зоне между субкапсулой и корой, а также в коре появляются тимоциты с умеренной экспрессией корецепторов и β-цепи ТКР (фенотип $CD4^{\pm}CD8^{\pm}{}_{\beta}TKP^{+}$). Под влиянием эпителиальных клеток коры проходит дальнейшее созревание тимоцитов, что регистрируется по усилению экспрессии корецепторов CD4 и CD8 и полноценной экспрессии ТКР (фенотип $CD4^+CD8^+{}_{\alpha\beta}TKP^+$). Последующая дифференцировка осуществляется в переходной зоне кортико-медуллярного соединения под влиянием дендритных клеток и макрофагов. В результате образуются субпопуляции Т-киллеров/супрессоров (фенотип $CD4^-CD8^+{}_{\alpha\beta}TKP^+$) и Т-хелперов/индукторов (фенотип $CD4^+CD8\ {}_{\alpha\beta}TKP^+$)

ными клетками, обладающими разветвленными выростами, которые окружают тимоциты. Выраженная экспрессия на поверхности эпителиальных клеток молекул I и II классов МНС является определяющим фактором положительной селекции клеток тимуса (об этом см. далее). В результате взаимодействия эмигрантов из субкапсулярной области с эпителиальными клетками коры происходит активная, одновременная экспрессия на поверхности тимоцитов двух корецепторов – CD4 и CD8, что дало название кортикальным клеткам – *двойные позитивы*. При этом двойные позитивные тимоциты становятся обладателями полноценных ${}_{\alpha\beta}$ТКР. Таким образом, основной фенотип кортикальных тимоцитов – $CD4^+\ CD8^+\ {}_{\alpha\beta}TKP^+$.

Факт прохождения положительной селекции в коре определяет дальнейшую дифференцировку на субпопуляции $CD4^+CD8^-$ и $CD4^-CD8^+$, которая осуществляется в основном в переходной области – кортико-медуллярном соединении под

влиянием взаимодействия с дендритными клетками и макрофагами. Эти клетки получили название *одинарных позитивов*. Здесь же проходит и отрицательная селекция тимоцитов (см. далее). В результате прошедших дифференцировочных событий в меллулярной области накапливаются клетки с фенотипом $CD4^+CD8^-TKP^+$ (Т-хелперы) и $CD4^-CD8^+TKP^+$ (Т-киллеры), часть которых мигрирует в периферические лимфоидные органы.

4.2.2. Реорганизация генов Т-клеточного рецептора в процессе дифференцировки тимоцитов

Наиболее ранний предшественник Т-клеток, мигрировавший из костного мозга в субкапсулярную область тимуса, обладает нативной организацией генов для ТКР – исходным состоянием генома, которое определяется как генная организация зародышевой линии развития. В результате взаимодействия субкапсулярных тимоцитов с эпителиальными клетками данного региона происходит первое реорганизационное событие. На этом этапе внутритимусного развития оно касается только генов для β-цепи ТКР и проявляется в объединении одного из двух D-сегментов с одним из двенадцати J-сегментов.

По мере дальнейшего развития тимоцитов происходит второе реорганизационное событие – объединение одного из тридцати V-генов с DJ, что приводит с синтезу полноценной β-цепи. На этом третьем этапе развития синтезируемая β-цепь еще остается в цитоплазме и фенотип клеток неотличим от фенотипа предыдущего этапа ($CD4^-$ $CD8^-$ TKP^-).

Начало умеренной экспрессии β-цепи в комплексе с CD3-пептидами является сигналом для реорганизации генов α-цепи, а также выхода на клеточную поверхность CD4 и CD8. Эти внутриклеточные события сопряжены с переходом тимоцитов из субкапсулярной области во внутренний корковый слой. Фенотип этих клеток: $CD4^+$ $CD8^+$ $_{\beta}TKP^{\pm}$. Вскоре тимоциты коры начинают умеренную экспрессию функционально полноценного $_{\alpha\beta}TKP$. Фенотип таких клеток: $CD4^+$ $CD8^+$ $_{\alpha\beta}TKP^+$. После завершения процесса представления основных функционально активных полипептидов создаются условия селекции тимоцитов по их способности распознавать собственные молекулы MHC (табл. 4.4).

Таблица 4.4

Этапы реорганизации генов αβ-цепей Т-клеточного рецептора

Этап	Характер реорганизации	Фенотип тимоцитов	Область тимуса
1	Нативной геном	$CD4^-CD8^-{}_{\alpha\beta}TKP^-$	Субкапсула
2	Соединение DJ	$CD4^-CD8^-{}_{\alpha\beta}TKP^-$	Субкапсула
3	Завершение реорганизации генов β-цепи	$CD4^-CD8^-{}_{\alpha\beta}TKP^-$ (β-цепь в цитоплазме)	Субкапсула
4	Начало реорганизации генов α-цепи	$CD4^+CD8^+{}_{\beta}TKP^{\pm}$	Промежуточная зона между субкапсулой и корой; кора
5	Завершение реорганизации генов α-цепи	$CD4^+CD8^+{}_{\alpha\beta}TKP^{\pm}$ $CD4^+CD8^+{}_{\alpha\beta}TKP^+$	Кора; кортикомедуллярное соединение

4.2.3. Положительная и отрицательная селекция клеток в тимусе. Формирование клоноспецифических Т-клеток

Эксперименты, демонстрирующие распознавание рецепторами Т-клеток комплекса «своего с чужим». Выше были представлены молекулярные основы двойного распознавания Т-клетками – распознавания молекул I или II классов МНС и ассоциированных с ними антигенных пептидов. Изучению молекулярных механизмов такого распознавания предшествовали опыты с использованием систем взаимодействия несингенных (аллогенных) клеток in vitro.

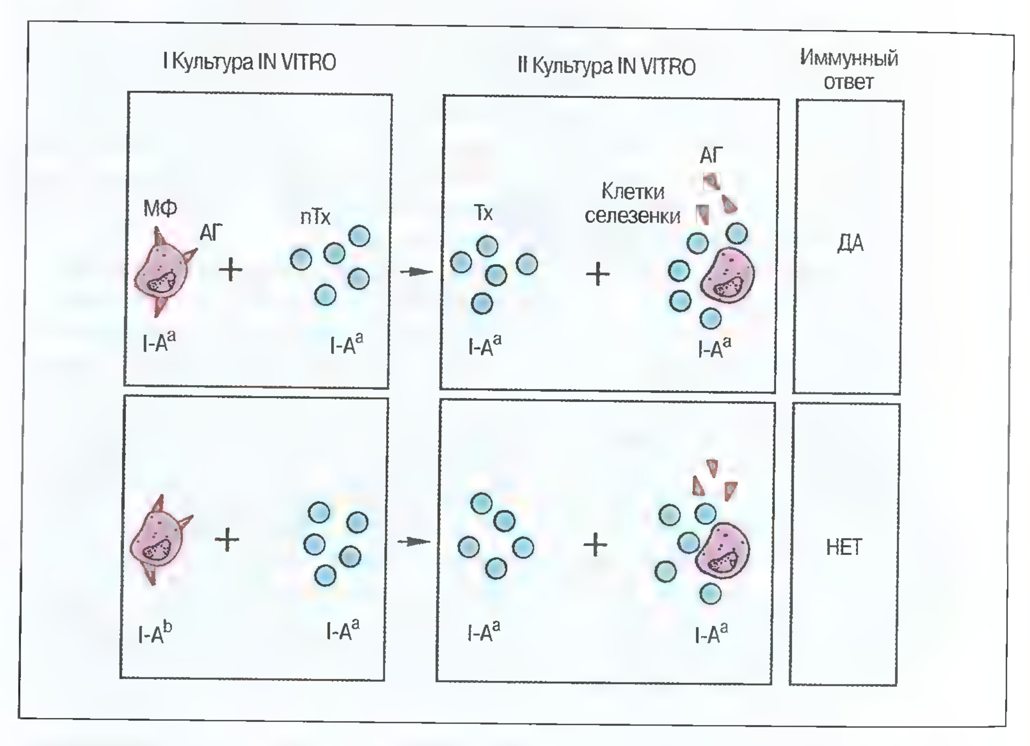


Рис. 4.18. Участие молекул II класса главного комплекса гистосовместимости в индукции Т-хелперов у мышей

Презентирующие антиген (АГ) макрофаги (МФ), относящиеся к определенному гаплотипу по генам II класса главного комплекса гистосовместимости (например, I-A^a или I-A^b), помещали в культуру in vitro вместе с Т-лимфоцитами. Через определенное время совместного культивирования Т-лимфоциты, прошедшие примирование в первичной культуре, переносили во вторичную культуру, куда добавляли интактные клетки селезенки и гомологичный антиген. В тех случаях, когда Т-лимфоциты получали от первичной культуры, в которой взаимодействующие клетки (макрофаги и Т-клетки) были идентичны по генам II класса, констатировали выраженное развитие антителопродукции во вторичной культуре. В то же время Т-лимфоциты от первичной культуры, содержащей неидентичные по генам II класса клетки, оказывались неспособными обеспечить хелперный эффект во вторичной культуре. Иначе, созревание Т-хелперов из предшественников происходит только в условиях идентичности по генам II класса между взаимодействующими клетками

В опытах по генерации Т-хелперов, усиливающих продукцию антител, были получены следующие результаты (рис. 4.18). В культуру поглотивших антиген макрофагов вносили предшественники Т-хелперов, которые были либо генетически идентичными, либо отличались от макрофагов по генам МНС. После определенного времени совместного культивирования Т-клетки переносили во вторичную культуру, содержащую сингенные клетки селезенки (источник антителопроду-

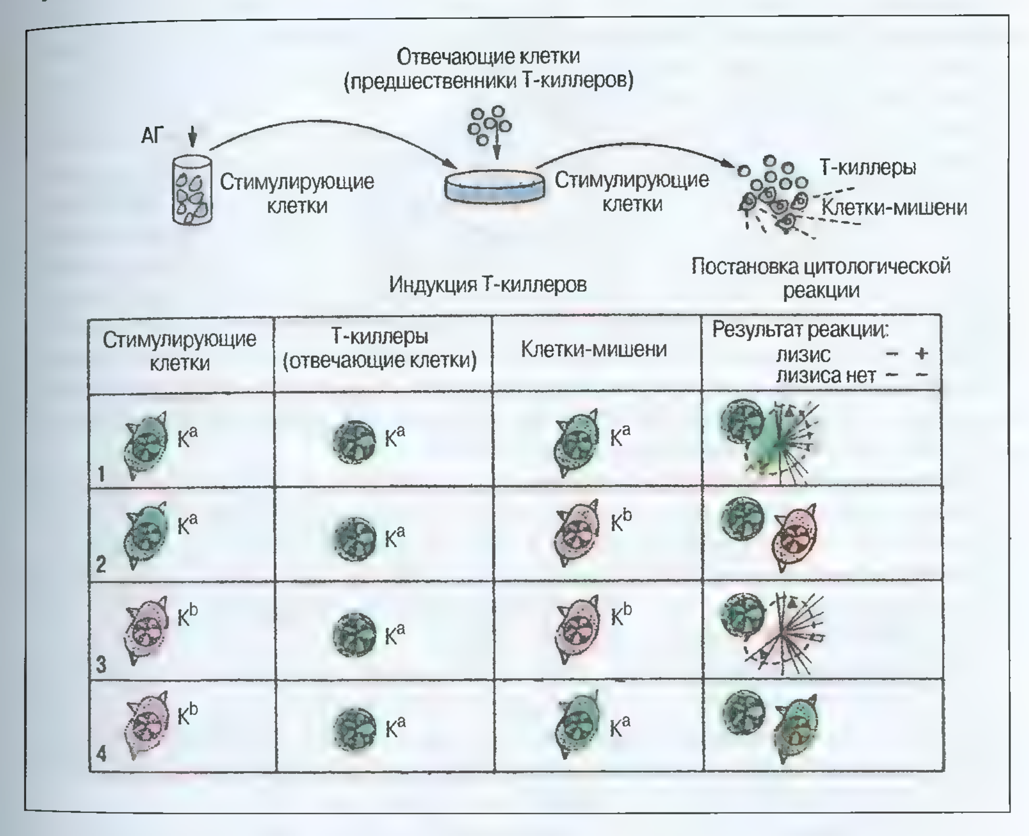


Рис. 4.19. Генетические ограничения при взаимодействии Т-киллеров с клетками-мишенями, конъюгированными с антигеном

Клетки с определенной характеристикой по локусу К конъюгировали с антигеном. Такие клетки выступали в качестве стимулирующих, антигенпредставляющих клеток в культуре in vitro, куда вносили интактные Т-клетки, идентичные или отличающиеся по локусу К от стимулирующих клеток. После 4–5 сут совместного культивирования Т-клетки собирали и тестировали в цитотоксической реакции с клетками-мишенями, конъюгированными с гомологичным антигеном. 1 – при генетической идентичности по локусу К между стимулирующими и отвечающими клетками, а также клетками-мишенями развивается выраженная цитотоксическая реакция; 2, 4 – цитотоксический ответ Т-киллеров отсутствует, если между стимулирующими клетками и клетками-мишенями имеются различия по локусу К; 3 – в то же время генетическая идентичность по локусу К между этими клетками обеспечивает развитие полноценной цитотоксической реакции, хотя локус Т-киллеров представлен в аллельном варианте по отношению к локусу клетки-мишени (K^a против K^b). Аналогичные отношения выявлены для локуса D. Генетические различия по генам II класса не имеют значения

центов) и гомологичный антиген. В тех случаях, когда Т-лимфоциты получали от первичной культуры, в которой взаимодействующие клетки были идентичны по генам, контролирующим молекулы II класса, констатировалось сильное развитие иммунного ответа. В то же время Т-клетки от культуры, содержащей не идентичные по генам II класса клетки, оказались неспособными обеспечить хелперный эффект во вторичной культуре. Таким образом, созревание Т-хелперов из предшественников в первичной культуре происходит только в условиях идентичности между взаимодействующими клетками по молекулам II класса. Различия, затрагивающие поверхностные молекулы, контролируемые другими генами МНС, не имели значения для генерации Т-хелперов.

Цитотоксические Т-клетки, как и Т-хелперы, распознают не собственно чужеродный антиген, а его комплекс с молекулами МНС. Однако ограничения в данном случае касаются молекул I класса. Это заключение было сделано по результатам достаточно простых, но демонстративных опытов. Мышей с определенным гаплотипом иммунизировали одним из вирусов (рис. 4.19). От примированных животных получали Т-клетки, которые использовали в цитотоксическом тесте с клетками-мишенями. В тех случаях, когда Т-киллеры и мишени обладали идентичным геном, контролирующим молекулы I класса ($H\text{-}2^k$ или $H\text{-}2^d$), развивалась сильная цитотоксическая реакция. При генетических различиях по генам I класса реакция не развивалась. Ограничения касались только этих генов и не затрагивали генов, контролирующих антигены II класса.

Объяснение полученных данных строится на том представлении, что в процессе примирования происходит селекция клона Т-киллеров, способных распознавать комплекс антигена с молекулами I класса определенного гаплотипа. В связи с этим популяция Т-клеток, обогащенная специфическими Т-киллерами, будет распознавать только те мишени, зараженные вирусом, которые имеют тот же, что Т-киллеры, генотип по генам I класса.

Положительная селекция клеток в тимусе. Прямые доказательства роли стромы тимуса в селекции тимоцитов, распознающих собственные молекулы МНС, получены при работе с облученными мышами, которым компенсаторно вводили костный мозг от генетически идентичных доноров и опустошенную строму тимуса от генетически идентичных или отличающихся доноров (рис. 4.20).

Мышей-гибридов $(H\text{-}2^d \times H\text{-}2^k)F_1$ облучали летальной дозой, чтобы выбить собственные лимфоидные клетки, и тимэктомировали. В контрольных опытах обработанным подобным образом животным трансплантировали костный мозг и строму тимуса от гибридных же (сингенных) доноров. Через 3 мес (время, достаточное для полного восстановления утраченной при облучении лимфоидной ткани) животных заражали вирусом оспы и еще через 6 дней после завершения латентного периода из селезенки иммунизированных животных выделяли лимфоциты. Цитотоксическую активность этих клеток проверяли на клетках-мишенях одного из родителей (гаплотип родителей $H\text{-}2^k$ или $H\text{-}2^d$). И в первом и во втором случае эффекторные Т-клетки гибридов развивали цитотоксическую реакцию.

Забегая вперед, следует заметить, что эти результаты легко объяснимы с точки зрения внутритимусной селекции к «своему». Если распознавание «своего» действительно происходит в тимусе, то предшественники гибридного, трансплантирован-

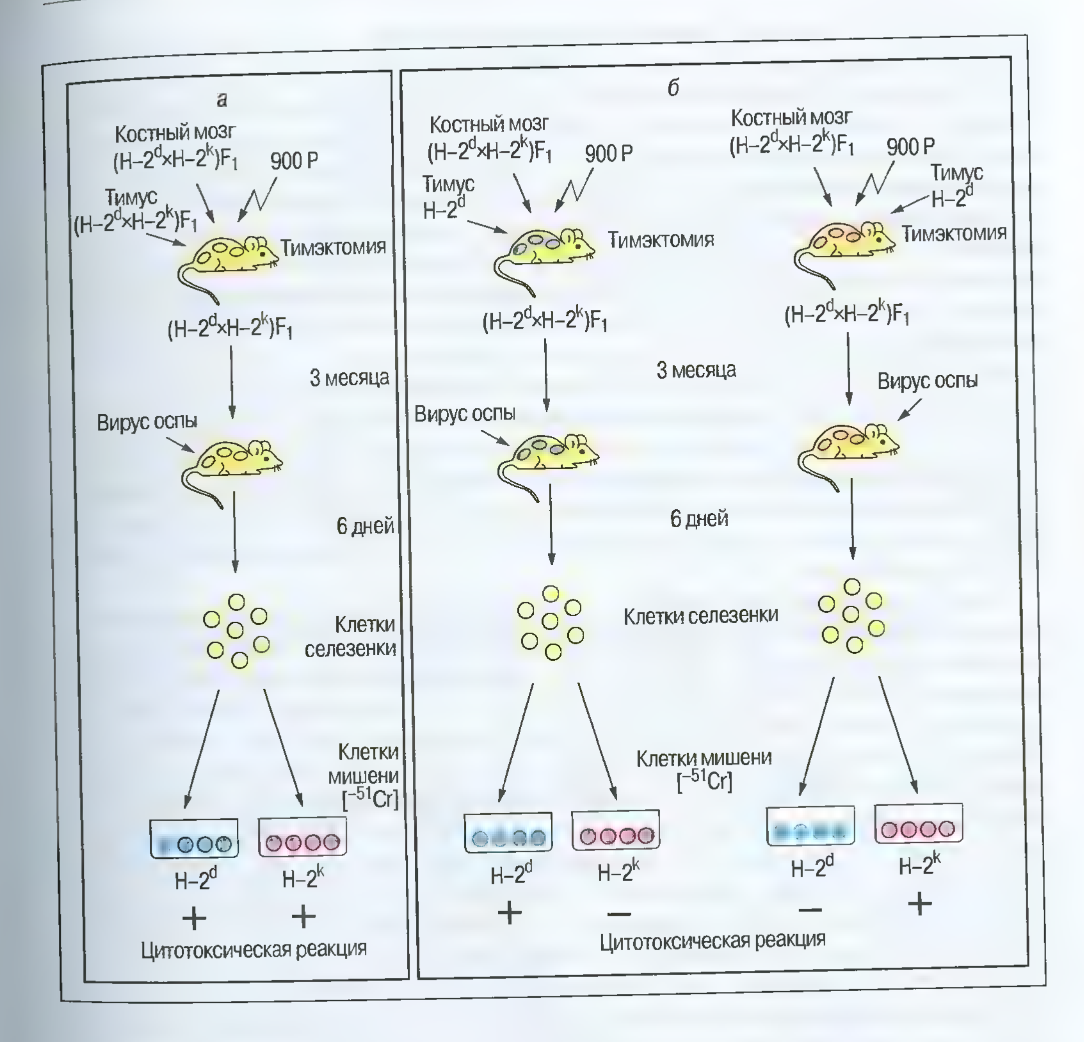


Рис. 4.20. Роль тимуса в отборе клеток с репепторами к собственным молекулам главного комплекса гистосовместимости

а – мышей-гибридов (H-2^d × H-2^k)F_1 облучали летальной дозой и подвергали тимэктомии. Таким лишенным клеток собственной лимфоидной ткани мышам компенсаторно трансплантировали эпителиальную строму сингенного тимуса и сингенный костный мозг. Через 3 мес, т.е. время, достаточное для восстановления лимфоидной ткани облученных реципиентов, животных заражали вирусом оспы. Через 6 дней из селезенки иммунизированных мышей выделяли клетки, цитотоксическую активность которых проверяли на клетках-мишенях одного из родительских гаплотипов (H-2^d или H-2^k). И в первом, и во втором случаях эффекторные клетки гибридов развивали цитотоксическую реакцию; *б* – ситуация менялась, если вместо гибридного тимуса трансплантировали тимус одного из родителей (гаплотипы H-2^d или H-2^k). В тех случаях, когда пре-Т-клетки гибридного костного мозга колонизировали тимус родительского гаплотипа, формировались цитотоксические эффекторы, способные разрушать клетки-мишени только того гаплотипа, к которому относился тимус. Эти данные свидетельствуют в пользу процесса распознавания тимоцитами собственных антигенов гистосовместимости в тимусе

ного костного мозга, оказавшись в гибридном же тимусе, встретили как молекулы $H\text{-}2^k$, так и молекулы $H\text{-}2^d$, экспрессирующиеся на эпителиальных, стромальных клетках органа. Приобретя специфический рецептор к молекулам того или иного генотипа, клетки прошли селекцию на образование клонов, способных реагировать с комплексом молекула МНС–экзогенный антиген (пептид). В результате такие отобранные лимфоциты разрушают мишени как $H\text{-}2^k$, так и $H\text{-}2^d$.

Ситуация менялась, если вместо гибридного тимуса трансплантировали тимус родителей $H\text{-}2^d$ или $H\text{-}2^k$. В тех случаях, когда Т-прекурсоры костного мозга колонизировали родительский тимус, формировались эффекторы цитотоксической реакции, способные разрушать клетки-мишени только того генотипа, к которому относился тимус.

Гибридные пре-Т-клетки костного мозга, заселяющие родительский тимус, строма которого экспрессирует только одну аллельную форму молекул МНС ($H\text{-}2^d$ или $H\text{-}2^k$), после достижения стадии развития с фенотипом $CD4^+CD8^+{}_{\alpha\beta}ТКР^{\pm}$ имеют множество клонов с разной специфичностью по ${}_{\alpha\beta}$ТКР. Однако дальнейший путь развития обеспечен только тем клонам, которые распознали молекулы МНС, характерные для тимуса данного генотипа. Все остальные погибают и не выходят на периферию.

Более прямые доказательства были получены при использовании трансгенных мышей. Когда реорганизованные гены для Т-клеточного рецептора вводятся в геном мышей, перестройка эндогенных генов подавляется, так что большинство развивающихся Т-клеток экспрессируют рецептор, который кодируется трансгенами для α- и β-цепей. При введении трансгенов мышам известного генотипа по МНС можно установить влияние молекул этого комплекса на созревание тимоцитов. Например, введение трансгенов αβ-цепей, специфичных к молекулам I класса генотипа $H\text{-}2^a$, мышам с генотипом $H\text{-}2^b$ приводит к незавершенной дифференцировке тимоцитов $H\text{-}2^b$, заканчивающейся на стадии $CD4^+CD8^+$. Если таких трансгенных мышей заразить вирусом, их Т-клетки будут разрушать вирусинфицированные мишени, относящиеся к генотипу $H\text{-}2^a$, но не $H\text{-}2^b$, как это происходит с Т-клетками нормальных мышей (табл. 4.5).

Ясно, что отсутствие соответствующих рецепторов к собственным молекулам МНС не позволяет тимоцитам пройти полный путь развития и проявить себя в цитолитической реакциии. Через 3–4 дня клетки, не способные распознать собственные антигены, погибают в тимусе.

Таблица 4.5.

Цитолитическая активность Т-клеток нормальных и трансгенных мышей

Экспериментальная ситуация	Т-клетки	Мишени	Ответ
Норма (трансгены не вводили)	$H\text{-}2^b$	$H\text{-}2^b$	+
	$H\text{-}2^b$	$H\text{-}2^a$	–
Введение трансгенов αβ–цепей, специфичных к $H\text{-}2^a$	$H\text{-}2^b$	$H\text{-}2^b$	–
	$H\text{-}2^b$	$H\text{-}2^a$	+

События, развивающиеся в тимусе при селекции клеток по их способности распознавать собственные молекулы МНС, представлены на рис. 4.21. Завершившаяся на первом этапе реорганизация генов для α- и β-цепей обеспечивает экспрессию Т-клеточного рецептора на клеточной поверхности. До окончания положительной селекции уровень экспрессии этих рецепторов незначительный, но вполне достаточный для взаимодействия с соответствующими молекулами. Поскольку реорганизация генов, контролирующих вариабельные области Т-клеточного рецептора (VDJ для β-цепи и VJ для α-цепи), – процесс случайный, то образуются самые разнообразные по специфичности рецепторы. Условно их можно разбить на три категории: те, которые способны взаимодействовать с молекулами I или II классов, и те, которые такой способностью не обладают. Кроме того, антигенсвязующий центр рецепторов, независимо от принадлежности к той или иной категории, имеет участок, потенциально способный взаимодействовать с экзогенным, чужеродным пептидом.

На стадии умеренной экспресии Т-клеточных рецепторов тимоциты представляют собой сырой материал для отбора. В коре тимуса, обогащенной эпителиаль-

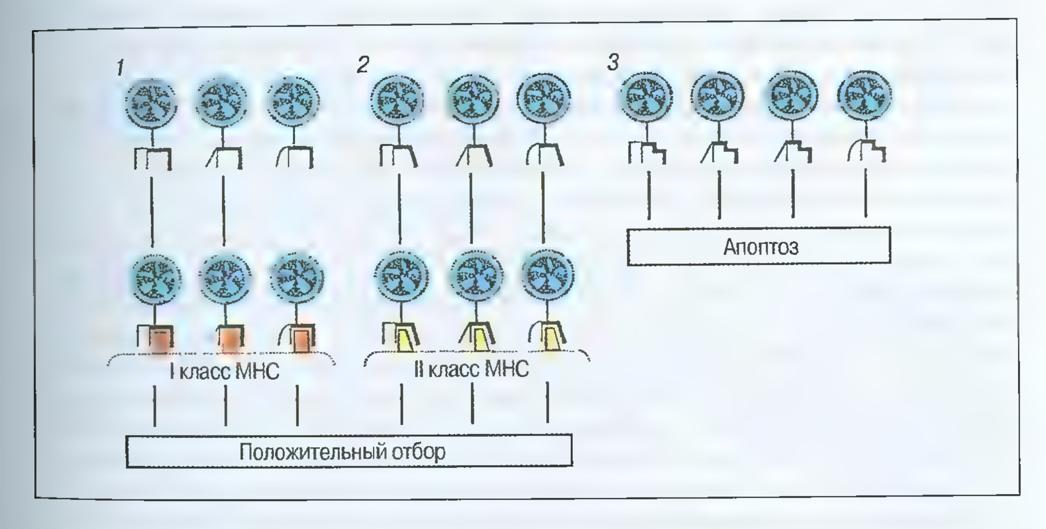


Рис. 4.21. Положительная селекция в тимусе клеток, способных распознавать собственные молекулы главного комплекса гистосовместимости

Завершившаяся реорганизация генов α- и β-цепей Т-клеточного антигенраспознающего рецептора (ТКР) обеспечивает формирование множества клонов с рецепторами, отличающимися по специфичности. Среди этих клонов представлены те клоны, рецепторы которых способны распознавать собственные молекулы I класса МНС (*1*), молекулы II класса МНС (*2*) и клетки, не обладающие такой способностью (*3*). Последние представлены в подавляющем большинстве. Антигенсвязующий центр ТКР имеет участок, взаимодействующий с молекулами I или II классов (толстая линия), и участок, взаимодействующий с антигенным пептидом (тонкая линия). Среди обилия формирующихся клонов отбираются только те, которые способны взаимодействовать с молекулами МНС. Все прочие клетки подвергаются апоптозу и погибают в тимусе. Клетки, прошедшие положительную селекцию на специфичность взаимодействия с собственными молекулами МНС, после дополнительной дифференцировки на субпопуляции и отрицательной селекции на аутоантигены (см. рис. 4.22) покидают тимус и мигрируют в периферические лимфоидные органы, где они образуют пул антигенреактивных Т-киллеров и Т-хелперов

ными клетками, которые экспрессируют как молекулы I, так и II классов, происходят основные селекционные процессы. Если тимоциты обладают рецепторами, способными взаимодействовать с молекулами I или II классов, то они подвергаются дальнейшей дифференцировке. Судьба тимоцитов, чьи рецепторы не соответствуют специфичностям молекул МНС, завершается в тимусе. Селекция тимоцитов по специфичности их рецепторов — процесс крайне жесткий. Более 90% клеток гибнет в органе, и только незначительная их часть, прошедшая сито отбора (менее 5%), «обречена» на дальнейшую жизнь.

Если клетка не выдержала первичного положительного отбора, она еще некоторое время (3—4 суток) остается жизнеспособной и продолжает реорганизовывать гены α-цепи, представляя новые по специфичности рецепторы. Иначе, отбор не завершается на исходном сочетании α, β-цепей. Клетка «стремится прийтись ко двору» посредством изменения специфичности рецепторов за счет α-цепей. Без этого дополнительного механизма гибель тимоцитов, не прошедших первичного отбора, была бы еще выше.

На этапе формирования клонов, способных взаимодействовать с одной из молекул МНС, процесс дифференцировки клеток не заканчивается. Тимоциты, подвергающиеся отбору, экспрессируют как CD4-, так и CD8-корецепторы. Однако как только отбор на специфичность произошел, тимоцит теряет один из корецепторов. Во всех случаях отбор на специфичность к молекулам I класса определяет сохранение CD8 и потерю CD4. Напротив, тимоциты, прошедшие селекцию к молекулам II класса, экспрессируют CD4 и подавляют синтез CD8. Наиболее четко корреляция фенотипических маркеров со специфичностью рецепторов показана на трансгенных мышах. Если мышам вводили реорганизованные гены для αβ-цепей со специфичностью к молекулам I класса, то все образовавшиеся зрелые Т-клетки имели фенотип Т-киллеров (CD8). В ситуации, когда специфичность касалась молекул II класса, все зрелые Т-клетки несли корецептор Т-хелперов (CD4). Коррелятивная связь корецепторов со специфичностью Т-рецепторов показана и на других экспериментальных моделях. Мутантные мыши, у которых отсутствуют молекулы II класса, не способны образовывать $CD4^{+}$-лимфоциты. Введение таким мышам трансгена, кодирующего синтез молекул II класса, полностью восстанавливало формирование $CD4^{+}$-клеток.

Определяющим моментом экспрессии одного из двух корецепторов в процессе созревания тимоцитов является их способность взаимодействовать с теми молекулами МНС, с которыми проходит селекция: CD4 — с молекулами II класса и CD8 — с молекулами I класса. После такого распознавания путь внутритимусной дифференцировки тимоцитов с образованием Т-хелперов и Т-киллеров, мигрирующих на периферию, завершается

Отрицательная селекция клеток в тимусе. В условиях нормы иммунная система толерантна (терпима) к аутологичным (собственным) антигенам организма. Запрет на иммунную реакцию ко многим аутоантигенам формируется в тимусе.

Принципиальная возможность подобного запрета следует из опытов с трансгенными мышами. Специфический рецептор, синтезируемый трансгенами, будет представлен на всех Т-клетках. Если мышам, имеющим наведенный Т-клеточный рецептор, специфичный к комплексу собственная молекула МНС—чужеродный

пептид, ввести данный пептид, то реакция клеток в тимусе и на периферии будет прямо противоположной: отмечаются гибель тимоцитов, несущих рецептор заданной специфичности, и стимуляция пролиферации периферических Т-клеток, обладающих тем же рецептором.

Другой экспериментальный пример отрицательной селекции в тимусе связан с половым антигеном, который имеется у мышей-самцов и отсутствует у самок. Трансгенные мыши-самцы, обладающие рецептором, специфичным к комплексу полового антигена с собственными молекулами МНС, характеризуются незавершенным развитием клеток в тимусе. У них дифференцировка тимоцитов, экспрессирующих данный рецептор, завершается на стадии двойных позитивов ($CD4^+CD8^+$). В популяции одинарных позитивов ($CD4^+CD8^-$ или $CB4^-CB8^+$) на периферии также отсутствуют Т-клетки, обладающие рассматриваемым рецептором. В то же время у трансгенных самок тимоциты с рецепторами к антигену самца проходят полный путь дифференцировки и мигрируют на периферию.

Возможные механизмы положительной и отрицательной селекции клеток в тимусе. В основе процесса внутритимусной селекции клеток лежит разная степень сродства (аффинности) их рецепторов молекулам I или II классов МНС.

Экспрессия αβ-цепей в начальный период развития тимоцитов определяет накопление самых разнообразных по специфичности клеточных клонов, которые вступают в процесс распознавания молекул МНС на эпителиальных клетках коркового слоя. Относительно невысокая степень сродства между рецепторами и молекулами МНС является сигналом к началу дифференцировки тимоцитов и миграции созревших клеток на периферию (рис 4.22; *1*). Значительная степень сродства между взаимодействующими молекулами будет причиной гибели высокоаффинных клонов в результате апоптоза (рис 4.22; *3*). Следует заметить, что элиминирующее действие высокой аффинности — явление, характерное только для тимуса, но не для периферических лимфоидных образований. Среди клонов клеток тимуса будут и такие, рецепторы которых либо вообще не взаимодействуют с молекулами МНС, либо это взаимодействие осуществляется при крайне низкой степени аффинности (рис. 4.22; *4*). И в первом и во втором случаях судьба низкоаффинных клонов предопределена: это — их гибель в области кортико-медуллярного соединения. И, наконец, одно из явлений внутритимусного развития клеток связано с элиминацией аутореактивных (запрещенных) клонов. Успешное распознавание молекул МНС в корковом слое не является еще гарантией завершения процесса развития клона и его миграции на периферию. Если рецепторы тимоцитов способны распознавать собственные антигены (аутоантигены) в комплексе с молекулами МНС, то клетки, обладающие подобными рецепторами, элиминируются и их путь развития заканчивается на ранних стадиях развития (рис. 4.22; *2*). Фенотип клеток, не прошедших отбор на специфичность, соответствует двойным позитивам ($CD4^+CD8^+$) и указывает на незавершенность дифференцировки.

Итак, клетки, погибающие в тимусе, не выдерживают два условия отбора: первое — наличие некоторой средней степени сродства между рецепторами и молекулами МНС (очень высокая и очень низкая аффинность рецепторов приводит к гибели тимоцитов); второе — отсутствие реакции на собственные антигены (ауто-

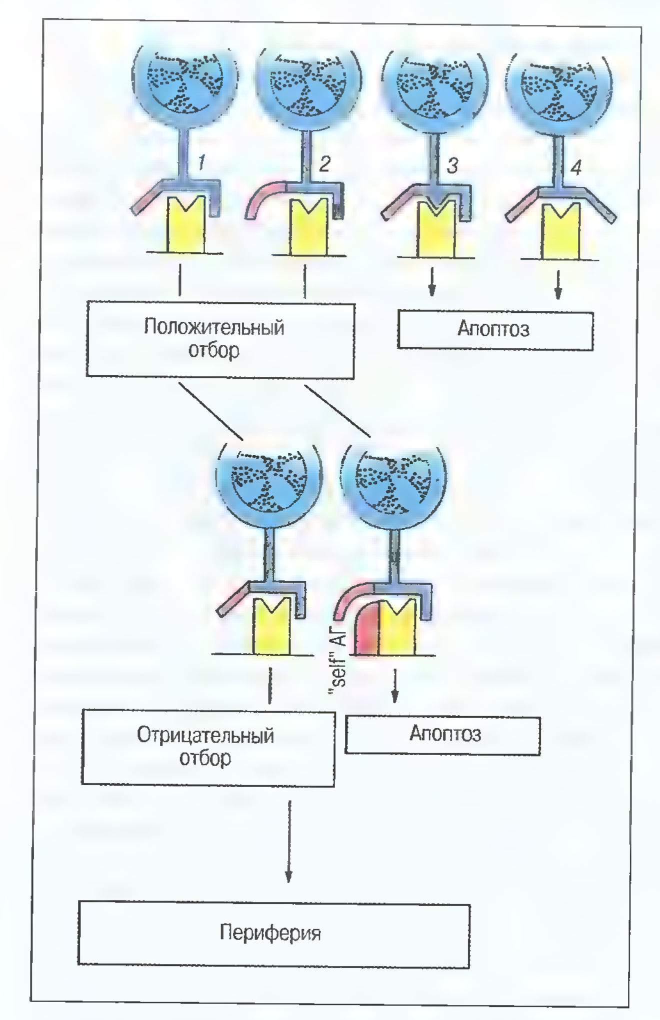


Рис. 4.22. Положительная и отрицательная селекция клеток в тимусе

1, 2, 3, 4 – Т-клеточные рецепторы (ТКР) разной степени аффинности по отношению к молекулам МНС. Умеренная степень сродства ТКР к молекулам МНС (*1*) определяет начало дифференцировки соответствующего клона, который по завершению процесса созревания мигрирует на периферию (пример положительной селекции). Очень высокая и очень низкая степень аффинности ТКР или полное отсутствие такой аффинности обусловливает гибель клеток через процесс апоптоза (*3, 4*). Клетки с ТКР, имеющие оптимальную аффинность по отношению к молекулам МНС, но при этом способные к распознаванию аутоантигена, комплексированного с молекулами I или II классов, также подвергаются апоптозу (*2*, пример отрицательной селекции)

антигены). Меньшая часть популяции тимоцитов, прошедших жесткие условия отбора на специфичность, покидает орган после завершения внутритимусного этапа дифференцировки.

4.3. Т-клетки периферии

Клетки, которые покидают тимус по кровеносным сосудам, мигрируют в периферические лимфоидные органы: лимфатические узлы, селезенку, пейеровы бляшки кишечника, оккупируя Т-зоны этих органов, называют Т-клетками периферии. В зависимости от характера лимфоидных образований количество лимфоцитов определенных субпопуляций в них варьирует. Так, более 70% клеток лимфатических узлов представлено Т-клетками, среди которых около 30%

составляют Т-киллеры (CD8⁺) и около 40% – Т-хелперы (CD4⁺). Напротив, в органах, которые несут основную нагрузку по продукции антител, – селезенка, пейеровы бляшки кишечника – количество Т-клеток снижено и составляет не более 30% от общего числа лимфоцитов (табл. 4.6).

Таблица 4.6.

Содержание (в %) клеток различных субпопуляций в лимфоидных органах

Орган	$CD4^+$	$CD8^+$	$CD4^+CD8^+$	НК	В-клетки
Тимус	8	4	84	1,5	1
Кровь	42	30	2	11	12
Лимфатические узлы	42	30	2	1,5	19
Селезенка	17	13	1,5	18	50

4.3.1. Адгезины и заселение Т-клетками периферических органов

Процесс миграции тимуспроизводных клеток в периферические лимфоидные органы контролируется целым набором *адгезивных молекул (адгезинов)*, представленных на поверхности как Т-лимфоцитов, так и клеток тех органов, которые заселяются лимфоцитами (рис. 4.23). Основными адгезивными молекулами являются: селектины, интегрины, адгезины суперсемейства иммуноглобулинов, а также муцинподобные молекулы. Адгезины принимают участие не только в расселении клеток по периферии, но и в процессах клеточного взаимодействия при развитии иммунного ответа.

Значение адгезинов в заселении клетками определенных лимфоидных структур (хоминге лимфоцитов) иллюстрируется следующими примерами. Созревшие в тимусе Т-клетки попадают с током крови в лимфатические узлы и пейеровы бляшки, где они, проходя через эндотелий посткапиллярных венул, проникают в паренхиму органа. В этом процессе заселения имеется два самостоятельных этапа: первый – взаимодействие мигрировавшей Т-клетки с эндотелием посткапиллярных венул; второй – проход через эндотелий в паренхиму. В реализации этих этапов принимают участие разные молекулы адгезинов.

На первом этапе в процесс адгезии вступают L-селектин нативных Т-клеток и муцинподобные адрессины эндотелия сосудов. Все селектины, включая P- и E-формы эндотелия, имеют сходную основную структуру, но отличаются строением лектинподобного домена экстрацеллюлярной части молекулы. Лектинподобный домен L-селектина взаимодействует с углеводными компонентами адрессинов эндотелия сосудов. Два адрессина – CD34 и GlyCAM-1 – экспрессируются на поверхности высокого эндотелия венул в лимфатических узлах. Третий – MAdCAM-1 – представлен на эндотелиальных клетках в слизистой и выполняет функцию проводника в лимфоидную ткань, ассоциированную со слизистыми поверхностями, такую как пейеровы бляшки кишечника.

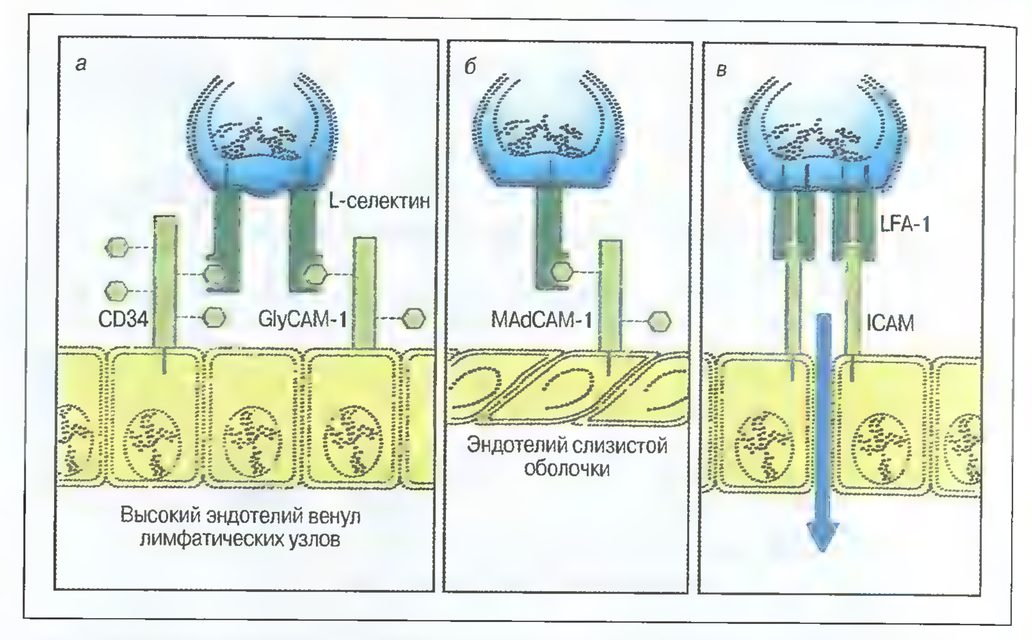


Рис. 4.23. Заселение Т-клетками периферических лимфоидных органов с помощью адгезивных молекул

Процесс заселения лимфоидных органов и тканей Т-клетками состоит из двух этапов. На первом этапе происходит адгезия Т-клеток на поверхности эндотелия сосудов, по которым они поступили в орган (*а, б*). На втором этапе осуществляется проход осевших лимфоцитов через эндотелий в паренхиму органа (*в*). Первый этап реализуется с помощью селектинов, представленных на поверхности Т-клеток (отмечен один из них – L-селектин) и лигандов эндотелия: CD34 и GlyCAM-1 на эндотелии лимфатических узлов и MAdCAM-1 на эндотелии слизистых оболочек. Собственно проход через эндотелий осуществляется посредством интегрина LFA-1 Т-клеток и ICAM эндотелиальных клеток

Взаимодействие между L-селектином и сосудистыми адрессинами лежит в основе специфического хоминга Т-клеток в лимфоидные органы. Однако такое взаимодействие не обеспечивает проход клеток через эндотелий в лимфоидную ткань. Преодоление эндотелиального барьера осуществляется при участии двух других групп адгезинов: интегринов и членов суперсемейства иммуноглобулинов.

Интегрины представляют собой большое семейство молекул, которые принимают участие в различных формах клеточной кооперации. Молекула интегринов построена из двух нековалентно связанных цепей: большей по молекулярной массе α-цепи и меньшей β-цепи. Последняя инвариантна и является общей для всех членов подсемейства; α-цепь варьирует и является индивидуальной характеристикой определенного члена подсемейства. На лимфоцитах экспрессируются такие важные для преодоления эндотелиального барьера интегрины, как LFA-1, VLA-4 и -5, которые взаимодействуют с членами суперсемейства иммуноглобулинов, представленными на эндотелиальных клетках: ICAM-1 и -2, VCAM-1.

Существует ли какая-либо специфичность по адгезинам, определяющим различную тропность субпопуляций Т-клеток (Т-хелперов и Т-киллеров) к лимфоидным образованиям, пока не ясно.

4.3.2. Наивные Т-клетки периферии

Для дальнейшего изложения удобно применять терминологию, которую использовали, в частности, Janeway и Travers (1994) в своей книге "Immunobiology". Мигрирующие из тимуса клетки, еще не встретившие антиген и не вступившие в иммунный ответ, получили название наивных Т-клеток. Те Т-лимфоциты, которые активируются антигеном и цитокинами, в условиях реального иммунного ответа определяются как армированные Т-клетки. Различия между наивными и армированными Т-клетками касаются как усиления экспрессии предсуществующих Т-клеточных рецепторов, корецепторов, адгезинов, так и смены их репертуара.

Строго охарактеризованы по фенотипическим маркерам только две субпопуляции наивных Т-лимфоцитов: цитотоксические Т-клетки (Т-киллеры; $CD8^+$) и Т-хелперы ($CD4^+$).

$CD4^+$-клетки в зависимости от локализации антигена (макрофаги, В-клетки и др.) трансформируются в две субпопуляции: T_H1 и T_H2. Если наивная Т-клетка распознает антиген, презентирующийся макрофагом, то она трансформируется в T_H1-клетки воспаления. Функция таких клеток заключается в усилении активности макрофагов, направленной на уничтожение захваченного антигена, или в приведении его в иммуногенную форму. Распознавание антигена на поверхности В-лимфоцитов является сигналом к трансфомации в T_H2-хелперы, которые обеспечивают усиление продукции антител.

Традиционно считают, что существуют две самостоятельные $CD8^+$-субпопуляции: цитотоксические Т-клетки и Т-супрессоры. Очевидно, это не так. В зависимости от конкретной иммунологической ситуации – дозы антигена, времени введения, характера самого антигена, длительности развития иммунного процесса и других факторов – та же самая $CD8^+$-субпопуляция может выступать в роли то киллеров, то супрессоров. Функциональная трансформация цитотоксических Т-клеток в Т-супрессоры в свое время была продемонстрирована Т.В. Анфаловой и сотрудниками.

4.3.3. Цитокины, продуцируемые Т-клетками

Среди различных типов клеток организма Т-лимфоциты являются наиболее активными продуцентами цитокинов. Из более чем 30 цитокинов 20 продуцируются либо только Т-клетками, либо Т-клетками наряду с другими клеточными типами (макрофагами, фибробластами, В-клетками и т.д.). Продукция большинства из этих цитокинов начинается после антигенной или митогенной стимуляции Т-клеток и является, таким образом, одним из показателей функциональной зрелости этих клеток.

Однако некоторые цитокины продуцируются и наивными Т-клетками. В табл. 4.7 перечислены цитокины, продуцируемые как функционально не определившимися Т-клетками (условно обозначенные T_H0), так и клетками, относящимися к функционально зрелым субпопуляциям: Т-клеткам воспаления (T_H1) и собственно вспомагательным, хелперным Т-клеткам (T_H2).

Таблица 4.7.

Цитокины, продуцируемые различными субпопуляциями Т-клеток

Субпопуляция Т-клеток	Цитокины	Функциональная активность
T_H0	Интерлейкин-2 (ИЛ-2)	Стимуляция роста Т-, В- и НК-клеток
	Интерлейкин-4 (ИЛ-4)	Активация В-клеток, усиление продукции IgG1 и IgE, усиление экспрессии молекул II класса МНС, стимуляция роста Т-клеток
	Интерферон-γ (ИФН-γ)	Активация макрофагов, усиление экспрессии молекул МНС
T_H1	Интерлейкин-3 (ИЛ-3)	Ростовый фактор для многих гемопоэтическик клеток
	Гранулоцит-макрофагальный колониестимулирующий фактор (ГМ-КСФ)	Стимуляция роста и дифференцировки гранулоцитарной и моноцитарной линий развития
	Интерлейкин-2	Стимуляция роста Т-, В- и НК-клеток
	Интерферон-γ	Активация макрофагов, усиление экспрессии молекул МНС
	Фактор некроза опухолей-β (ФНО-β; лимфотоксин)	Киллинг клеток, активация эндотелиальных клеток, макрофагов
T_H2	Интерлейкин-3	Ростовый фактор для многих гомопоэтических клеток
	Интерлейкин-5 (ИЛ-5)	Рост и дифференцировка эозинофилов, дифференцировка IgA В-клеток
	Интерлейкин-6 (ИЛ-6)	Рост и дифференцировка В-клеток, индукция КСФ, костимулятор Т-клеток, участие в реакции острой фазы
	Интерлейкин-10 (ИЛ-10)	Усиливает экспрессию молекул II класса МНС, подавляет продукцию цитокинов T_H1

***

Т-система иммунитета включает тимус как центральный орган системы, различные субпопуляции Т-клеток (Т-хелперы/индукторы, Т-киллеры/супрессоры), группу цитокинов, продуцируемых Т-клетками.

Основной вопрос, связанный с данной системой, касается изучения роли тимуса в формировании клоноспецифических Т-лимфоцитов, относящихся к разным субпопуляциям.

Путь дифференцировки тимоцитов от пре-Т-клеток костного мозга начинается в субкапсулярной зоне органа. Клетки, вступающие в процесс развития, не имеют основных маркеров дифференцировки CD4-, CD8-корецепторов, а также Т-клеточного антигераспознающего рецептора (ТКР). Такие тимоциты получили название двойных негативов. Под влиянием эпителиальных клеток-кормилиц субкапсулярной зоны происходит накопление тимоцитов с умеренной экспрессией CD4 и CD8. Начинаются синтез β-цепи ТКР и последуюшая экспрессия этого полипептида на клеточной поверхности. Фенотип таких клеток: $CD4^{\pm}CD8^{\pm}{}_{\beta}TKP^{\pm}$. Дальнейшее развитие тимоцитов происходит в коре. Здесь под влиянием эпителиальных клеток усиливается экспрессия корецепторов; ТКР представлен полностью сформированной молекулой, хотя его количество на клеточной поверхности умеренно. Основной фенотип клеток коры: $CD4^{+}CD8^{+}{}_{\alpha\beta}TKP^{\pm}$. Тимоциты этой стадии развития получили название двойных позитивов. В корковой зоне происходит одно из основных событий – положительная селекция клеток на способность узнавать собственные молекулы I или II классов МНС. В процессе селекции отбираются клоны, чьи рецепторы конформационно соответствуют молекулам I или II классов. При распознавании молекул I класса дифференцировка направляется в сторону формирования Т-киллеров, при распознавании молекул II класса – в сторону Т-хелперов. На клеточной поверхности экспрессируется только один из двух корецепторов: CD4 на поверхности Т-хелперов и CD8 на поверхности Т-киллеров. Дифференцировка на субпопуляции сопровождается еще одним крайне важным событием для функционирования системы – отрицательной селекцией. Из популяции тимоцитов через процесс апоптоза удаляются клетки, способные реагировать с аутоантигенами, комплексированными с собственными молекулами МНС. Незначительное количество прошедших жесткие условия положительного и отрицательного отбора клеток мигрирует на периферию.

Выжившие клетки относят к категории наивных Т-лимфоцитов, т.е. таких клеток, которые еще не вступали в процесс распознавания чужеродных антигенов. В их заселении периферических лимфоидных органов и тканей принимают участие адгезивные молекулы клеточной поверхности, экспрессирующиеся как на Т-лимфоцитах, так и на эндотелии кровеносных сосудов, пронизывающих лимфоидные образования. В результате лиганд-рецепторных взаимодействий наивные Т-клетки проникают в паренхиму органа.

К Т-системе иммунитета относится также группа цитокинов, продуцируемых клетками этой системы. Их иммунорегуляторное действие начинает проявляться в основном при антигенной или митогенной стимуляции и носит разнонаправленный характер в зависимости от иммунологической ситуации и типов клеток, принимающих участие в иммунном реагировании.

Весь путь доантигенного развития Т-системы иммунитета создает потенциал для возможной в будущем встречи организма с различным антигенночужеродным материалом.

Глава 5. ИММУННЫЙ ОТВЕТ И ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ КЛЕТОК

Развитие Т- и В-систем иммунитета включает два основных этапа. Первый состоит из комплекса событий, которые характеризуют собой доантигенный путь становления систем. Он направлен на создание потенциала клеточных и молекулярных механизмов, необходимых для будущих возможных встреч с антигеном (патогеном). На этом этапе происходит онтогенетическая закладка систем, дифференцировка прекурсоров иммунокомпетентных клеток до функционально подготовленных, способных отвечать на антиген Т- и В-лимфоцитов; формирование специфических клеточных клонов, взаимодействующих только с одной из множества антигенных детерминант; элиминация клонов, реагирующих на собственные антигены; дифференцированное заселение периферических лимфоидных органов и тканей.

Второй этап связан с прямым функционированием Т- и В-систем, с постантигенным путем их развития. Он включает три основных события: 1) распознавание антигена функционально незрелыми (наивными) Т- или В-клетками; 2) их ответную реакцию на антиген в виде пролиферации и дифференцировки до зрелых эффекторных клеток; 3) собственно эффекторную фазу в иммунном ответе — нейтрализацию и уничтожение антигена.

Антиген как фактор индукции специфического ответа определяет запуск целого каскада реакций, среди которых наиболее существенными являются:

— распознавание чужеродного антигена;

— усиление миграции лимфоцитов, распознавших антиген;

— развитие реакции межклеточных взаимодействий;

— пролиферация и дифференцировка клоноспецифических предшественников эффекторных Т- и В-лимфоцитов;

— активация системы комплемента;

— нейтрализация растворимого антигена специфическими антителами или разрушение чужеродных клеток цитотоксическими Т-лимфоцитами и последующий фагоцитоз антигенного материала;

— формирование Т- и В-клеток памяти после первичного контакта с антигеном.

В самой сжатой форме основное содержание каждого из этапов можно определить несколькими словами: первый этап — это формирование антигенспецифических клонов, второй — работа таких клонов.

Глава посвящена описанию современных данных о клеточных и молекулярных механизмах работы Т- и В-систем иммунитета в условиях встречи организма с антигеном.

5.1. Клеточный иммунный ответ

В отличие от В-системы иммунитета, которая нейтрализует антиген с помощью гуморальных эффекторных молекул — антител, Т-система уничтожает антигены, представленные на клетках, через прямое взаимодействие специфических, цитотоксических CD8 Т-клеток с измененными собственными или чужеродными клетками.

Вторая отличительная черта Т-клеток связана с особенностями распознавания антигена. Как уже отмечалось, Т-клетки распознают не собственно антигенный пептид (эпитоп), а его комплекс с молекулами I или II классов МНС. Распознавание комплекса, включащего молекулы I класса, осуществляется цитотоксическими Т-лимфоцитами (ЦТЛ; иное обозначение этих клеток: Т-киллеры, CD8 Т-клетки). В тех случаях, когда антигенный пептид образует комплекс с молекулами II класса, в процесс взаимодействия с таким комплексом вступают либо CD4 Т-клетки воспаления (T_H1, прежнее название клеток этой субпопуляции: Т-индукторы, $T_{ГЗТ}$), либо хелперные CD4 Т-клетки (T_H2).

Если наивные Т-клетки распознают комплекс на поверхности макрофагов, поглотивших патоген, то такие клетки дифференцируются в CD4 Т-клетки воспаления, активируют макрофаги и тем самым способствуют внутриклеточному перевариванию (уничтожению) патогена. Путь проникновения антигена в клетку может осуществляться не только за счет неспецифической адгезии патогена на поверхности макрофагов, но и посредством специфического взаимодействия с предсуществующими антигенраспознающими рецепторами (поверхностными иммуноглобулинами) В-клеток. Экспрессия переработанного антигена в комплексе с молекулами II класса на поверхности В-клеток включает в ответ наивные Т-клетки, дифференцирующиеся в хелперные CD4 Т-клетки. В этом случае хелперные CD4 Т-клетки оказывают помощь В-клеткам в продукции антител, т.е. в формировании гуморального иммунного ответа. В табл. 5.1 представлены сравнительные характеристики особенностей проявления клеточного и гуморального иммунного ответа.

Таблица 5.1.

Сравнительная характеристика проявлений клеточного и гуморального иммунного ответа

Признак	**Клеточный иммунитет**		**Гуморальный иммунитет**
	Цитотоксические клетки	**Активированные макрофаги**	
Патоген	Вирусы (вирус гриппа, вирус оспы и др.), Listeria, Toxoplasma gondi	Бактерии, простейшие (Mycobacterium tuberculosis, M. leprae, Leishmania donovani)	Бактерии и их токсины (Clostridium tetani, Staphylococcus aureus, Streptococcus pneumoniae и др.)
Локализация и деградация	Цитозоль	Вакуоли макрофагов	Внеклеточная жидкость; вакуоли В-клеток
Презентация антигена	Комплекс антигенного пептида с молекулами I класса МНС на поверхности инфицированной клетки	Комплекс антигенного пептида с молекулами II класса МНС на поверхности инфицированных макрофагов	Комплекс антигенного пептида с молекулами II класса МНС на поверхности специфических, инфицированных В-клеток

Таблица 5.1 (окончание).

Признак	Клеточный иммунитет		Гуморальный иммунитет
	Цитотоксические клетки	Активированные макрофаги	
Эффекторные Т-клетки	Цитотоксические CD8 Т-клетки	CD4 Т-клетки воспаления (T_H1)	Хелперные CD4 Т-клетки (T_H2)
Эффекторное действие	Лизис инфицированных клеток	Лизис внутриклеточных патогенов активированными макрофагами	Синтез специфических антител, нейтрализующих внеклеточные патогены и их токсины

5.1.1. Основные реакции клеточного иммунитета (феноменология)

Для изучения механизмов клеточного иммунитета, действующего в организме человека и животных, были разработаны модельные, экспериментальные системы in vitro и in vivo.

Реакция цитотоксических Т-лимфоцитов (ЦТЛ; CD8 Т-клеток). При вирусной инфекции, опухолевом росте, отторжении трансплантата основными эффекторными клетками являются цитотоксические Т-лимфоциты (CD8 Т-клетки).

Этапы цитолитического действия CD8 Т-клеток включают: распознавание антигена Т-предшественниками, их пролиферацию и дифференцировку до зрелых эффекторов, собственно процесс лизиса измененных своих вирусинфицированных и раковых клеток или чужеродных клеток трансплантированной ткани. Изучение клеточных и молекулярных механизмов, действующих на каждом этапе, было проведено главным образом в опытах in vitro.

Приемы экспериментальной работы достаточно просты. Например, к суспензии клеток-мишеней, характеризующихся тем или иным поверхностным антигеном и меченных хромом-51, добавляют примированные к такому антигену лимфоциты, которые выделяют от мышей, предварительно иммунизированных данным антигеном. После определенного времени совместной инкубации (4–24 ч), в течение которого происходят лизис клеток-мишеней и выход в супернатант хрома-51, культуральные пробирки центрифугируют и определяют количество метки в супернатанте, являющееся эквивалентом числу разрушенных клеток-мишеней (рис. 5.1).

Процесс лизиса чужеродных клеток состоит из нескольких этапов (рис. 5.2). Первый этап – специфическое связывание примированных CD8 Т-клеток с поверхностным чужеродным антигеном (пептидами вирусных, трансплантационных, раковых антигенов). Взаимодействие антигенраспознающих рецепторов цитотоксических Т-клеток с соответствующим антигеном усиливается дополнительными неспецифическими молекулярными структурами клеточной поверхности, которые обеспечивают наиболее эффективную динамическую адгезию меж-

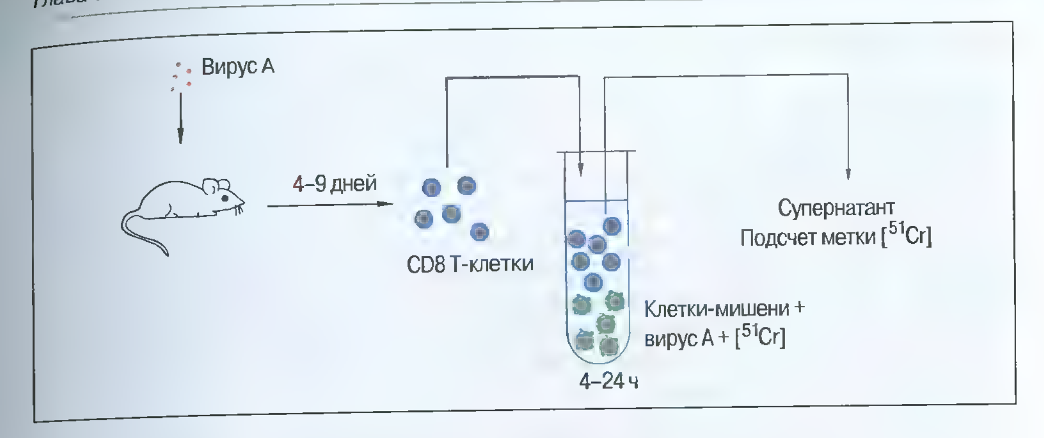


Рис. 5.1. Схема одного из вариантов постановки цитотоксической реакции

От мышей, иммунизированных вирусом (условно, вирусом А), через 4–9 дней после введения антигена выделяют клетки лимфатического узла или селезенки. Оценку цитотоксической активности таких примированных клеток проводят in vitro с помощью клеток-мишеней, проинкубированных с вирусом и радиоактивной меткой [^{51}Cr]. К клеткам-мишеням добавляют тестируемые клетки в разном соотношении. В результате реакции цитолиза клеток-мищеней в супернатанте накапливается [^{51}Cr]. Количество радиоактивной метки в супернатанте эквивалентно числу разрушенных клеток

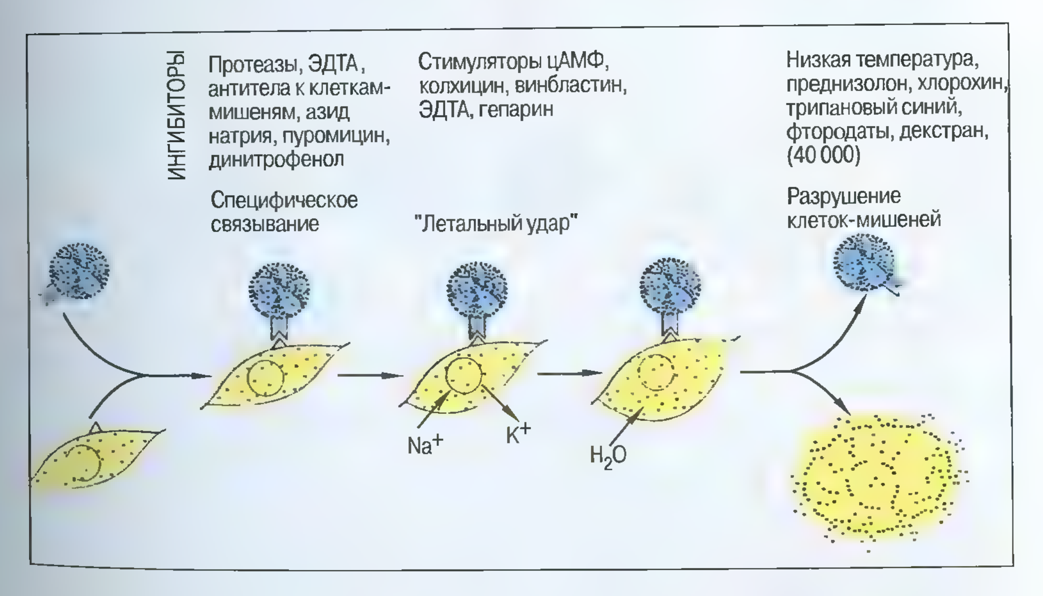


Рис. 5.2. Этапы взаимодействия цитотоксических Т-лимфоцитов (ЦТЛ; Т-киллеров; CD8 Т-клеток) с клеткой-мишенью

Первый этап – специфическое связывание ЦТЛ с клеткой-мишенью. Механическое разобщение взаимодействующих клеток спасает клетку-мишень от лизиса. Второй этап – «летальный удар» – основное событие, предопределяющее гибель клетки-мищени. ЦТЛ должен находится в состоянии активного метаболизма. При этом жизнеспособность клетки-мищени не является обязательным условием. Механическое разобщение между взаимодействующими клетками на этом этапе не спасет клетку-мишень от гибели. Третий этап – заключительный, приводящий к лизису клетки-мишени. ЦТЛ остается неповрежденным и способен к дальнейшему цитотоксическому действию

ду клетками. Второй этап, получивший название «летального удара», представляет собой основное событие, предопределяющее гибель клетки-мишени. Механическое разобщение эффектора и клетки-мишени на этом этапе не спасает последнюю от гибели. Для этого этапа характерно повышение проницаемости клеточной мембраны, нарушение баланса натрий-калиевого насоса. Механизм, лежащий в основе «летального удара», не достаточно ясен. Одним из факторов, повреждающих мембрану клетки, выступает лимфотоксин (фактор некроза опухолей-β – ФНО-β). Третий этап, приводящий к лизису клетки-мишени, характеризуется увеличением ее объема за счет все большего проникновения H_2O через поврежденную мембрану. В результате этих процессов происходят разрыв мембраны клетки-мишени и ее гибель. Эффекторная клетка сохраняется и способна к дальнейшему цитолитическому действию.

Реакция в смешанной культуре лимфоцитов (СКЛ). Для изучения механизмов цитолитического действия CD8 Т-клеток используют два основных приема: 1) индукцию цитотоксических Т-лимфоцитов in vivo, когда для получения клеток-эффекторов иммунизируют животных антигенами клеток-мишеней (обычно это аллогенные или опухолевые клетки); 2)индукцию таких клеток in vitro, когда созревание цитотоксических Т-клеток инициируют в смешанной культуре лимфоцитов (СКЛ).

В последнем случае в качестве стимуляторов для примирования используют клетки лимфоидной ткани, генетически отличающиеся от распознающих предшественников CD8 Т-лимфоцитов, модифицированные вирусом или иным антигеном (например, гаптеном) сингенные клетки, а также сингенные раковые клетки. Клетки-стимуляторы облучают суперлетальной дозой или обрабатывают ингибитором клеточного деления для подавления их пролиферации. Предшественники CD8 Т-клеток вносят в культуру интактными. В результате распознавания антигенов клеток-стимуляторов предшественники цитотоксических Т-лимфоцитов вступают в реакцию пролиферации и дифференцировки, что оценивается по включению ^{3}Н-тимидина. Эффективность примирования предшественников CD8 Т-клеток оценивается во вторичной культуре по лизису клеток-мишеней, аутологичных или сингенных клеткам-стимуляторам (рис. 5.3).

Установлено, что распознавание антигена предшественниками CD8 Т-клеток недостаточно для генерации функционально активных цитотоксических лимфоцитов: необходима помощь со стороны хелперных CD4 Т-клеток и макрофагов.

Реакция гиперчувствительности замедленного типа. Одной из форм клеточного иммунного ответа является реакция гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ). Реакция впервые была описана немецким бактериологом Робертом Кохом в 1891 г. Введение интактным морским свинкам вирулентных бацилл туберкулеза (Mycobacterium tuberculosis) приводит к быстрому распространению возбудителя по организму, развитию острого инфекционного процесса, как правило, с летальным исходом. Картина меняется, если бациллы вводятся предварительно иммунизированным животным. В этом случае внутрикожно введенный возбудитель оказывается локализованным в месте инъекции в результате развития воспалительной реакции. Клетки воспалительного узелка представлены в основном макрофагами и лимфоцитами. Картину локальной воспалительной реакции можно наблюдать при введении не только бацилл, но и их продуктов – туберкулина и PPD (от. англ.

purified protein derivative). Туберкулин – фильтрат культуральной жидкости M. tuberculosis. PPD состоит из белков, выделенных из культуры.

Реакция локального воспаления развивается не только на бациллы туберкулеза, но и на широкий набор бактерий, вирусов, грибков, для которых макрофаги являются местом выживания и размножения. Кроме того, реакция может быть воспроизведена с модельными антигенами, например с эритроцитами различных видов животных.

При повторном введении антигена реакция ГЗТ проявляется не сразу, а через 24–48 ч, отсюда и ее название – гиперчувствительность замедленного типа. По величине образующегося узелкового уплотнения (гранулемы) в месте введения антигена судят о напряженности иммунной реакции.

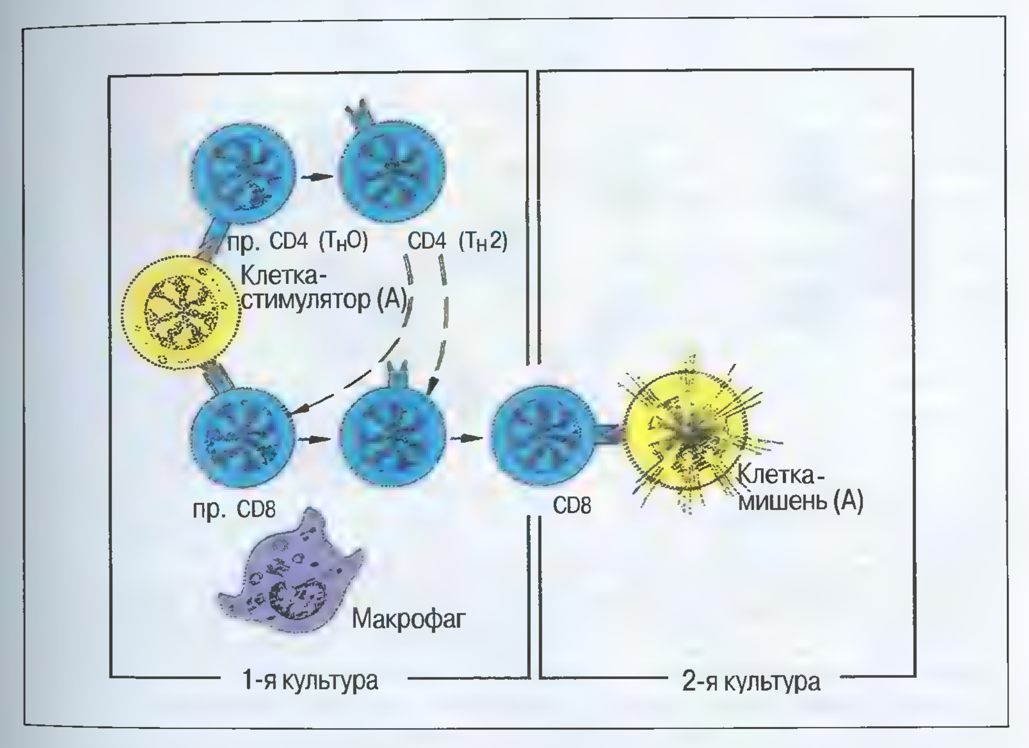


Рис. 5.3. Реакция в смешанной культуре лимфоцитов

Эта реакция пролиферации развивается in vitro при взаимодействии генетически отличающихся (аллогенных) лимфоцитов. Результат реакции состоит в накоплении цитотоксических Т-лимфоцитов (CD8 Т-клеток), специфичных к антигенам гистосовместимости клеток-стимуляторов. В первичной культуре предшественники ЦТЛ (пр. CD8), представленные в суммарной популяции анализируемых лимфоцитов, после распознавания аллоантигенов клеток-стимуляторов вступают в процесс пролиферации и дифференцировки до зрелых ЦТЛ (CD8). Интенсивность пролиферативной реакции оценивают по включению [^{3}H]-тимидина в размножающиеся клетки. Для созревания пр.CD8 необходима помощь со стороны макрофагов и хелперных CD4 Т-клеток (T_H2), образующихся из антигенраспознающих предшественников (T_H0). Оценку активности накопившихся в первичной культуре CD8 Т-клеток проводят во вторичной культуре (см. рис. 5.1). В качестве мишеней используют те аллогенные клетки, которые в первичной культуре выступали стимуляторами

5. Заказ № 67.

Первичное введение антигена в интактный организм приводит к его захвату макрофагами, внутриклеточной деградации части антигена и экспрессии образующихся антигенных фрагментов (пептидов) на клеточной поверхности в комплексе с молекулами II класса МНС (рис. 5.4). Комплекс пептид–молекула II класса распознается наивными CD4 Т-клетками (T_H0), которые дифференцируются в CD4 Т-клетки воспаления (T_H1) и хелперные CD4 Т-клетки (T_H2). При повторном введении того же самого антигена дифференцированные T_H1 и T_H2 быстро вступают в реакцию взаимодействия с макрофагом, поглотившим антиген. Результатом специфического взаимодействия является секреция T_H1 хемоаттрактантов, привлекающих в зону проникновения антигена макрофаги из кровотока.

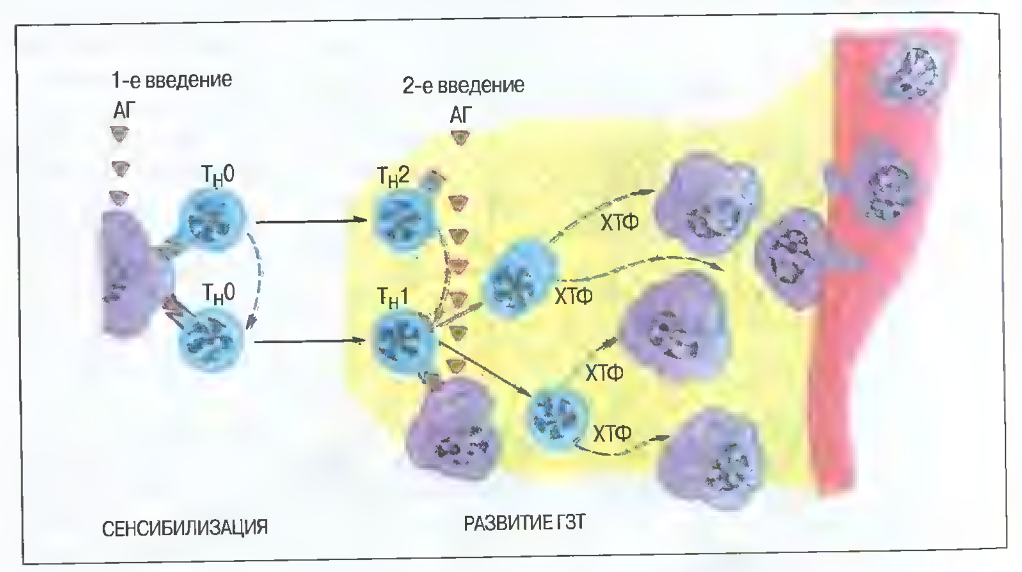


Рис. 5.4. Реакция гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ)

Гиперчувствительность замедленного типа – воспалительная реакция повышенной чувствительности, развивающаяся через 24–48 ч на месте повторного проникновения антигена. Первичное введение антигена в интактный организм приводит к поглощению этого антигена антигенпрезентирующими клетками (в частности, макрофагами), внутриклеточному разрушению и экспрессии образующихся антигенных фрагментов (пептидов) на клеточной поверхности в комплексе с молекулами II класса МНС. Иммуногенный комплекс распознается наивными CD4 Т-клетками (T_H0), которые дифференцируются в CD4 Т-клетки воспаления (T_H1; прежнее обозначение – $T_{ГЗТ}$, Т-индукторы). При повторной встрече с тем же антигеном зрелые T_H1 вступают в реакцию распознавания данного антигена. Результатом распознавания является активная продукция T_H1 хемотаксических факторов, привлекающих в зону проникновения антигена макрофаги и другие клетки воспаления из кровотока

Реакция трансплантат против хозяина. В клинической практике для компенсации врожденной или приобретенной иммунологической недостаточности иногда вынуждены прибегать к пересадке клеток кроветворной и лимфоидной ткани. Поскольку в клеточном трансплантате содержатся иммунокомпетентные клетки, то, как правило, развивается реакция этих клеток на антигены реципиента. Реакция получила название реакции трансплантат против хозяина (РТПХ).

Для экспериментального воспроизведения РТПХ необходимо соблюдение следующих условий:

1) реципиент должен быть толерантным к введенным чужеродным клеткам;

2) трансплантируемые клетки должны обладать иммунологической компетенцией;

3) между клетками донора и реципиента должны существовать антигенные различия.

В эксперименте реакцию оценивают либо по увеличению селезенки или лимфатических узлов, либо по смертности иммунологически инертного реципиента, которому введены лимфоциты генетически отличающегося донора. Один из вариантов РТПХ – увеличение массы и количества клеток в лимфатическом узле, регионарном к месту введения чужеродных лимфоцитов. Схема постановки реакции представлена на рис. 5.5. Мышам $(A \times B)F_1$ вводят лимфоциты одного из родителей (А или В) в подушечку одной из лап. Реципиент иммунологически толерантен к введенным клеткам, так как антигены родителей полностью представлены в гибриде. Через 7 дней определяют массу или количество клеток в подколенном (регионарном к месту введения клеток) лимфатическом узле. Отношение числа клеток в «опытном» лимфатическом узле к числу клеток в «контрольном» узле дает индекс РТПХ. При отношении опыт:контроль, дающем индекс более 1,3, реакция считается положительной.

Введенные чужеродные лимфоциты распознают неродственные антигены реципиента и формируют антигенспецифическую реакцию. В процесс распознавания включаются две субпопуляции лимфоцитов: предшественники CD8 Т-клеток (цитотоксических Т-клеток) и CD4 Т-клетки. Результатом реакции является накопление зрелых CD8 Т-клеток. Число клеток в селезенке или лимфатическом узле увеличивается не только за счет пролиферации введенных лимфоцитов, но и в результате привлечения в зону реакции собственных клеток реципиента.

Реакция отторжения трансплантата. Пересадка тканей или органов от одного индивидуума другому, генетически отличающемуся индивидууму, или от одной инбредной линии мышей другой, также генетически отличной от линии донора, вызывает реакцию отторжения пересаженного биологического материала. Время отторжения первичного трансплантата – около 14 дней. Вторичный трансплантат отторгается быстрее: приблизительно за 5–7 дней.

Отдельные реакции клеточного иммунитета, представленные выше, имеют свое интегральное проявление при отторжении чужеродной ткани. Собственно реакция отторжения включает два компонента: специфический, связанный в основном с активностью цитотоксических Т-клеток, и неспецифический, имеющий характер воспаления.

Развитие реакции трансплантационного иммунитета состоит из трех этапов (рис. 5.6): I) распознавание чужеродных антигенов трансплантата; II) созревание и накопление эффекторов трансплантационной реакции отторжения в периферической, ближайшей к трансплантату лимфоидной ткани; III) разрушение трансплантата.

Этап I. В процесс распознавания вступают предшественники цитотоксических Т-лимфоцитов (CD8 Т-клеток), предшественники хелперных и воспалительных Т-клеток (T_H0). После распознавания антигена клетки этих типов мигрируют в ближайшую лимфоидную ткань, например в регионарный лимфатический узел.

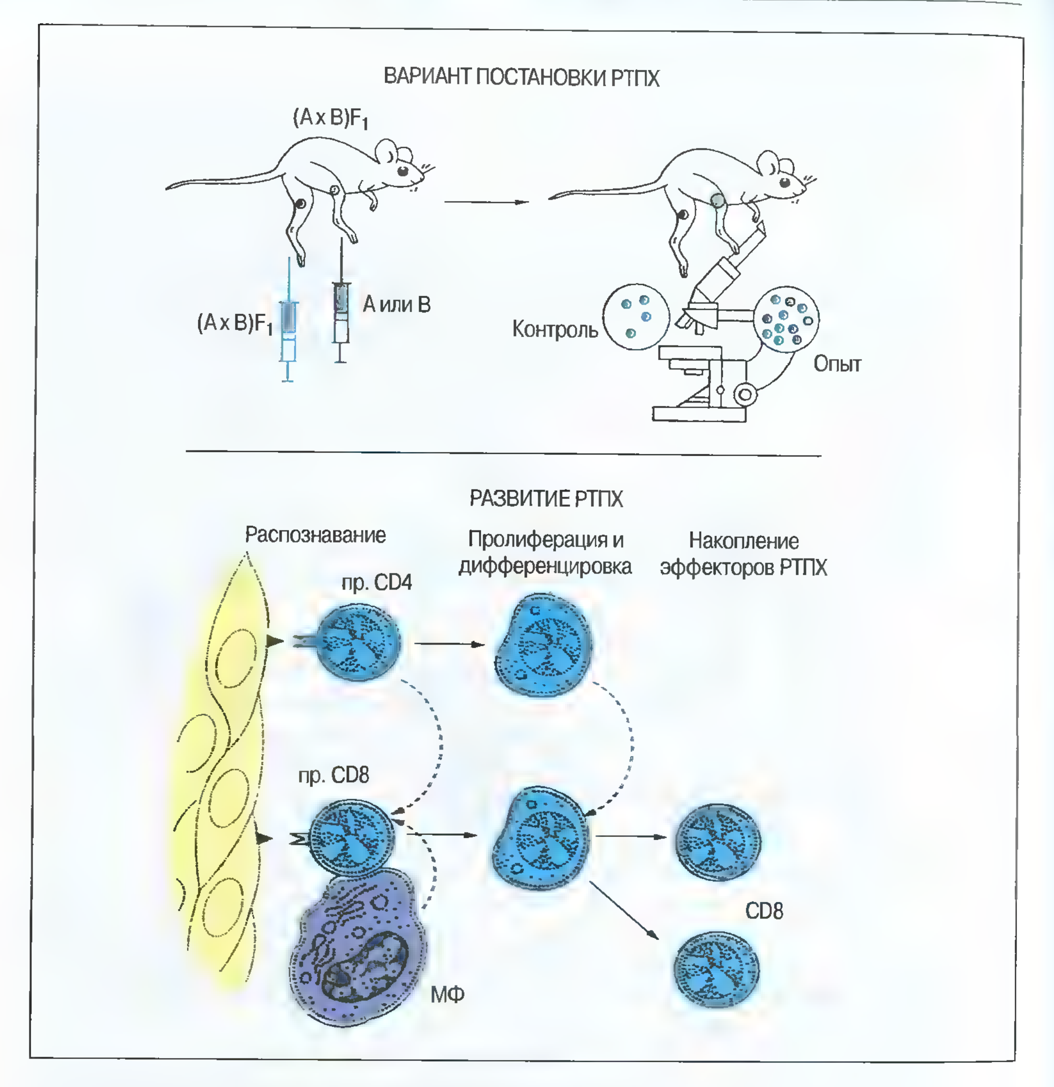


Рис. 5.5. Реакция трансплантат против хозяина (РТПХ)

Верхняя часть рисунка демонстрирует вариант постановки РТПХ. Мышам-гибридам $(A \times B)F_1$ вводят лимфоциты одного из родителей (А или В) в подушечку одной из лап. Реципиент иммунологически толерантен к введенным клеткам, так как антигены родителей полностью представлены в гибриде. В подушечку противоположной лапы вводят генетически идентичные клетки гибрида (контроль). Через 7 дней определяют массу или количество клеток в подколенном (региональном к месту введения) лимфатическом узле. Отношение количества клеток в «опытном» лимфатическом узле к количеству клеток в «контрольном» дает индекс РТПХ. При индексе более 1,3 реакция считается положительной. Нижняя часть рисунка указывает на клетки, принимающие участие в развитии реакции. Основными участниками являются предшественники цитотоксических Т-лимфоцитов (пр. CD8) и предшественники Т-клеток воспаления (T_H0). В процесс созревания включаются также макрофаги (МФ). Результат реакции – накопление зрелых CD8. Увеличение количества клеток в лимфатическом узле или селезенке происходит не только за счет размножения введенных клеток, но и в результате привлечения в зону воспаления собственных клеток реципиента и их пролиферации in situ

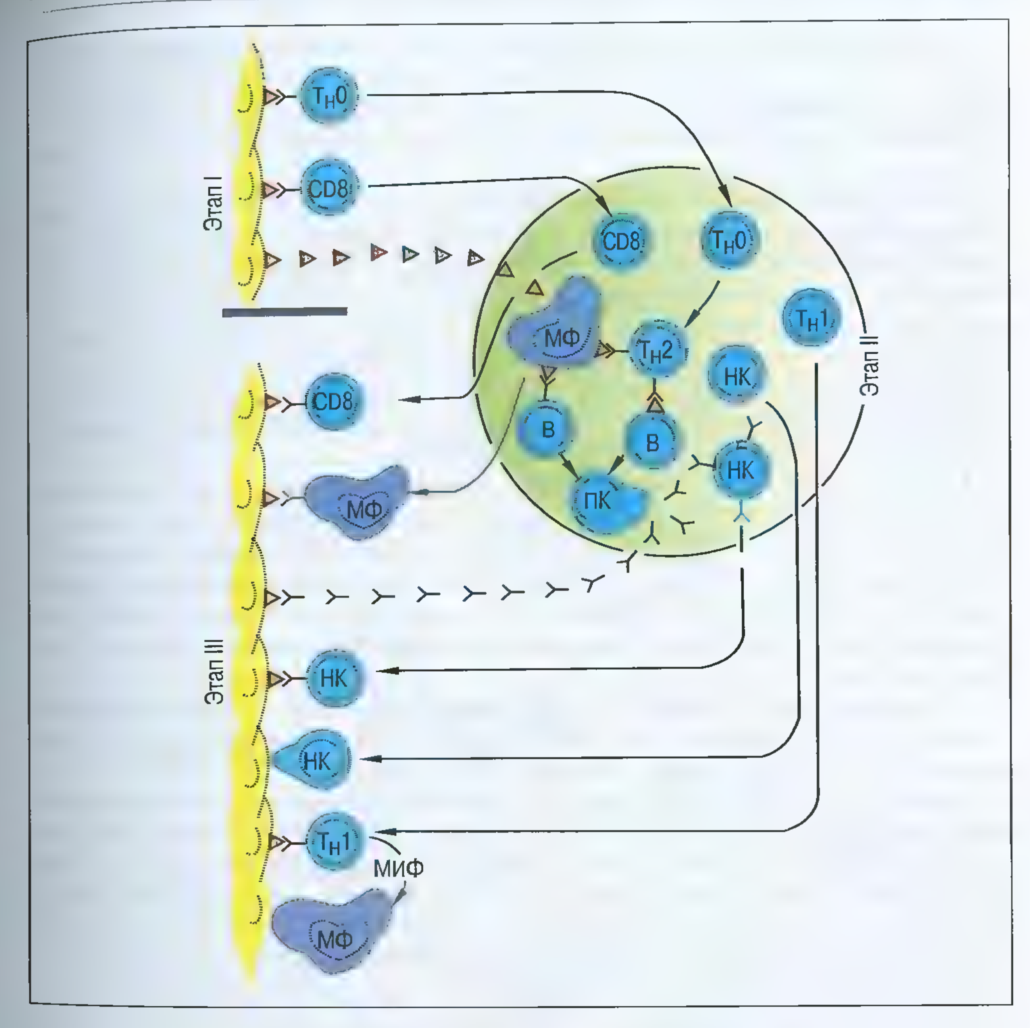


Рис. 5.6. Реакция отторжения трансплантата

Реакция включает три этапа. На I этапе происходит распознавание антигенов трансплантата предшественниками цитотоксических Т-лимфоцитов (пр. CD8) и предшественниками хелперных и воспалительных Т-клеток (T_H0). После распознавания клетки мигрируют в ближайшую (региональную) лимфоидную ткань. В периферической лимфоидной ткани развиваются основные события, приводящие к формированию эффекторов реакции отторжения (II этап). пр. CD8 трансформируются в эффекторные зрелые цитотоксические Т-клетки (CD8). Свободные трансплантационные антигены, поступающие в лимфоидную ткань, захватываются антигенпрезентирующими клетками (отмечены только макрофаги – МФ) и подключат к ответу как T_H1, так и T_H2 Т-клетки. При совместном участии антигенпрезентирующих клеток, В-клеток и T_H2 формируется гуморальный иммунный ответ, являющийся дополнительным фактором отторжения. Здесь же происходит сорбция секретируемых антител на поверхности натуральных киллеров (НК), а также активация макрофагов либо под воздействием цитокинов Т-клеток. либо в результате сорбции антител. Активируются также и НК-клетки под воздействием цитокинов Т-лимфоцитов. На III этапе развиваются основные события трансплантационной реакции – отторжение чужеродной ткани. Отторжение реализуется при участии зрелых CD8 Т-клеток, активированных иммуноглобулинами макрофагов, антителами при участии комплемента, НК-клетками, армированными иммуноглобулинами и активированными цитокинами. При участии T_H1 в зону отторжения привлекаются макрофаги, обеспечивающие воспалительный компонент реакции отторжения

Этап II. В периферической лимфоидной ткани развиваются основные события, приводящие к созреванию и накоплению клеток различных типов – эффекторов реакции отторжения. Предшественники цитотоксических Т-лимфоцитов, хелперных Т-клеток и Т-клеток воспаления дифференцируются в зрелые эффекторы.

Процесс распознавания может происходить не только непосредственно в зоне трансплантата, но и в регионарной лимфоидной ткани за счет проникновения в нее антигенов трансплантата. В лимфоидной ткани антиген после усвоения макрофагами и выхода на клеточную поверхность в иммуногенной форме обеспечивает накопление воспалительных Т-клеток (T_H1). Этот же антиген, экспрессируясь на поверхности В-клеток, включает хелперные Т-клетки (T_H2), что обеспечивает накопление специфических антител. Таким образом, помимо эффекторов клеточного иммунитета в лимфоидной ткани идет процесс формирования эффекторов гуморального иммунного ответа.

Секретируемые антитела могут сорбироваться на поверхности так называемых натуральных киллеров (НК-клеток) – особой популяции лимфоцитов, не имеющих маркеров Т- и В-клеток. Цитофильность антител к НК-клеткам обеспечивается взаимодействием Fc-участка иммуноглобулинов с соответствующим рецептором на поверхности НК-клеток. В результате НК-клетки, связавшие иммуноглобулин, приобретают способность к антителозависимому цитолизу клеток трансплантата.

В процессе развития реакции на трансплантат присходит активация макрофагов либо под воздействием цитокинов Т-клеток, либо в результате пассивной сорбции иммуноглобулинов по аналогии с НК-клетками.

Этап III. В разрушении и отторжении трансплантата участвуют перечисленные выше клеточные формы и специфические иммуноглобулины. Цитотоксические Т-лимфоциты (CD8 Т-клетки) и НК-клетки вступают в специфическую реакцию разрушения трансплантата: первые – за счет собственных антигенраспознающих рецепторов, вторые – за счет цитофильных антител. Т-клетки воспаления (T_H1) после взаимодействия с антигенами трансплантата начинают активную секрецию хемотаксического макрофагингибируюшего фактора, привлекающего в зону отторжения макрофаги, способные к неспецифическому лизису трансплантата (по своей форме это – типичная реакция воспаления). Клетки трансплантата неспецифически лизируются также активированными цитокинами – натуральными киллерными клетками.

Таким образом, в реакцию отторжения трансплантата включаются как специфические участники: CD8 Т-клетки (ЦТЛ), CD4 Т-клетки восплеления (T_H1), специфические иммуноглобулины, так и неспецифические: активированные макрофаги и натуральные киллеры.

5.1.2. Генерация эффекторных Т-клеток

При кратком описании реакций клеточного иммунитета, представленном выше, упоминалось, что первичное распознавание чужеродного антигена осуществляется функционально неподготовленными наивными Т-клетками, хотя внутри-

тимусная дифференцировка уже определила основные свойства этих клеток, что отражается в их делении на субпопуляции.

Созревание наивных Т-клеток в зрелые функционально активные (армированные) Т-клетки происходит в лимфоидной ткани. Место проникновения патогена (в более широком смысле антигена) в организм, как правило, удалено от лимфоидных образований. С током лимфы антиген попадает в ближайшие лимфатические узлы. Если антиген оказывается в кровотоке, то он оседает в селезенке. Локализация антигена на слизистых приводит к его миграции в лимфоидную ткань, ассоциированную с этими слизистыми покровами: в пейеровы бляшки, миндалины.

В периферической лимфоидной ткани имеются три типа специализированных клеток, которые способны усваивать антиген и представлять его в иммуногенной форме на своей поверхности для распознавания Т-клетками. Это – макрофаги, дендритные клетки и В-клетки (табл. 5.1, рис. 5.7). Все они получили обшее на-

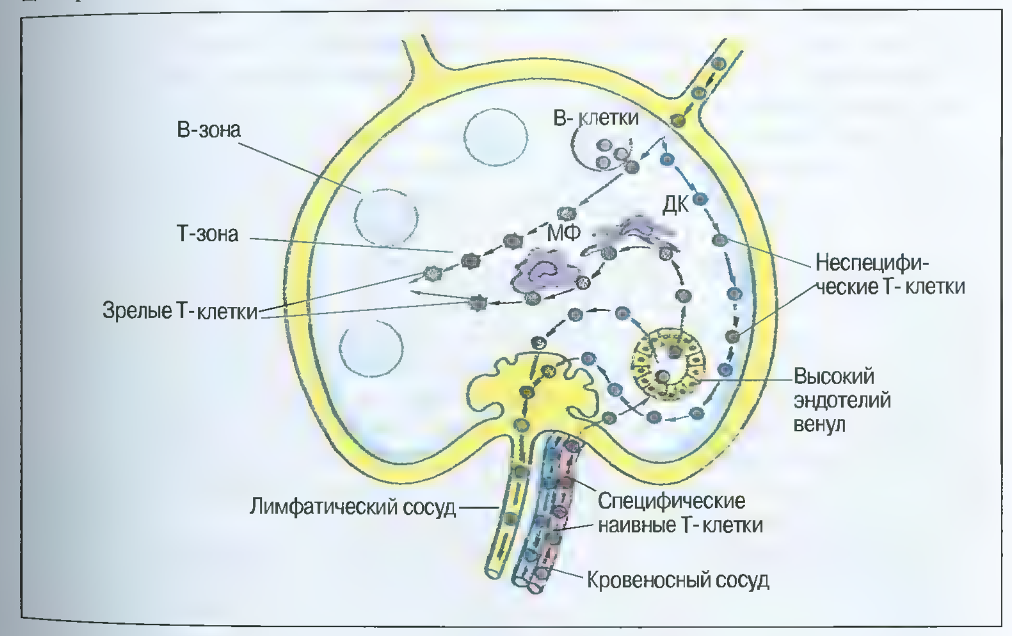


Рис. 5.7. Рециркуляция Т-клеток после проникновения антигена в лимфоидную ткань

Представлена схема лимфатического узла с направлениями движения Т-клеток по органу. Антиген с током лимфы от места проникновения в организм заносится в лимфатический узел. Антигенпрезентирующие клетки (макрофаги – МФ, дендритные клетки – ДК, В-клетки) захватывают, перерабатывают и представляют антигенные пептиды в комплексе с молекулами I или II классов МНС на своей поверхности. Эти процессы активируют рециркуляцию клеток. Рециркулирующие наивные Т-клетки, среди которых имеются и специфичные к комплексу лимфоциты (синие кружки) попадают в лимфатический узел либо по афферентным лимфатическим сосудам, либо по кровеносным сосудам. В тех случаях, когда антиген поступает в орган с кровотоком, ему приходится преодолевать высокий эндотелий венул. Оказавшись в паренхиме органа, наивные антигенспецифические Т-клетки после распознавания иммуногена на одной из антигенпрезентирующих клеток остаются в органе с тем, чтобы пройти дополнительную дифференцировку до функционально зрелых, армированных CD8 и CD4 Т-клеток. Антигеннеспецифические клетки, оказавшись невостребованными, покидают орган по эфферентному лимфатическому сосуду и вступают, таким образом, в новый цикл рециркуляции

звание антигенпрезентирующих клеток (АПК). Макрофаги не имеют гистологически определенного места локализации и широко представлены по всей лимфоидной ткани. Дендритные клетки связаны с Т-зоной лимфатических узлов. В-клетки концентрируются в фолликулах. Функция этих типов клеток – представление антигенных пептидов в комплексе с молекулами I или II класса, т.е. придание проникшему антигену иммуногенных свойств.

Оказавшийся в лимфоидной ткани антиген провоцирует усиление рециркуляции лимфоцитов. Наивные Т-клетки попадают в лимфатические узлы, в так называемую Т-зону через высокий эндотелий венул. Генерация зрелых (армированных) эффекторов Т-клеточного иммунного ответа начинается с распознавания антигенного пептида, комплексированного с молекулами I или II классов МНС, на поверхности макрофагов и дендритных клеток. Сам факт распознавания комплекса является обязательным, но недостаточным условием для инициации развития наивных Т-клеток в зрелые эффекторы. Необходимо предупреждающее включение кофакторов, которые способствуют взаимодействию рецептора Т-клеток с антигенным комплексом. Именно антигенпрезентирующие клетки обеспечивают такое двойное взаимодействие.

Активация наивных Т-клеток при первичной встрече с антигеном получила название примирование. Это определение введено с тем, чтобы отличить первичное взаимодействие с антигеном от взаимодействия зрелых эффекторов с тем же антигеном, когда собственно и проявляется функциональное предназначение различных субпопуляций Т-клеток. В ряде случаев, в частности при формировании специфической, цитотоксической реакции, презентирующая антиген клетка может выступать и как объект распознавания, и как объект цитолитического действия CD8 Т-клеток после их созревания. Среди наивных Т-лимфоцитов, проникающих в лимфоидную ткань и временно локализующихся в Т-зонах, только один из 10^5 оказывается способным к специфическому взаимодействию. Остальные постепенно перемещаются в медуллярную зону и через эфферентный лимфатический сосуд покидают орган, чтобы вновь оказаться в кровотоке и быть занесенным в другие лимфоидные образования организма.

Антигенпрезентирующие клетки в процессе активации наивных Т-клеток. Выше отмечалось, что хоминг наивных Т-клеток в лимфатические узлы осуществляется в результате взаимодействия L-селектинов Т-клеток с муцинподобными адрессинами сосудов (CD34, GlyCAM-1). При хоминге лимфоцитов в лимфоидную ткань слизистых в процесс включаются L-селектины и MAdCAM-1 эндотелия слизистых покровов. Прохождение Т-клеток через эндотелий в паренхиму органа происходит за счет другой группы адгезивных молекул: интегрина LFA-1 и членов суперсемейства иммуноглобулинов ICAM-1, -2, -3 (табл. 5.2).

Проникновение наивных Т-лимфоцитов в кортикальную зону приводит к их столкновению с антигенпрезентирующими клетками. На начальном этапе процесса, как это ни странно, отсутствует специфический компонент взаимодействия, т.е. взаимодействие Т-клеточного рецептора с иммуногеном на поверхности антигенпрезентирующих клеток. В межклеточный контакт вступают LFA-1 и CD2 Т-клеток и ICAM-1, -2, -3 и LFA-3 антигенпрезентирующих клеток. Дифференциальная роль каждого из этих адгезинов не установлена. Возможно, что их одно-

Сумка Фабрициуса – лимфоэпителиальный орган, расположенный в задней части клоаки у птиц (рис. 2.13). Просвет сумки выстлан цилиндрическим эпителием, подобным эпителию кишечника. Непосредственно за эпителиальным слоем располагаются узелки (дольки), общее строение которых напоминает организацию долек тимуса. Кора представлена в основном плотным скоплением малых лимфоцитов. Более светлое мозговое вещество включает большие лимфоциты, плазматические клетки, макрофаги, гранулоциты, ретикулярные клетки. Эпителиальные клетки органа образуют сеть, переходящую в эпителиальные покровы просвета органа. В отличие от тимуса и других лимфоидных органов в узелках сумки корковый слой отделен от медуллярного основной мембраной (рис. 2.14).

2.2. Клетки лимфоидного и моноцитарно-макрофагального рядов

Клетки, принимающие участие в становлении и функционировании иммунной системы, можно разделить на две группы. Это – основные клетки лимфоидного комплекса: Т- и В-лимфоциты и их субпопуляции. Вторая группа – вспомогательные клетки иммунной системы: антигенпрезентирующие клетки (макрофаги, дендритные клетки, В-клетки), представляющие антиген в форме, доступной для его распознавания основными клетками системы, и стромальные клеточные элементы органов, где происходят процессы созревания (дифференцировки) основных клеток иммунной системы.

Несколько в стороне стоят НК-клетки (нормальные киллерные клетки) – большие бластные, гранулярные лимфоциты. Функционально они не относятся к клеточным элементам специфического иммунитета, поскольку у них нет основного инструмента, который позволил бы им войти в категорию специфических клеточных факторов иммунитета, – антигенраспознающих рецепторов. Их участие в иммунном процессе заключается в неспецифическом разрушении чужеродных клеток (некоторых опухолевых клеток, вирусинфицированных клеток, неродственных трансплантатов).

Основная помощь в делении лимфоцитов на отдельные типы (популяции) и субпопуляции пришла из анализа их поверхностных молекулярных структур (рецепторов, маркеров), определяемых с помощью моноклональных антител. Поскольку к отдельно взятой молекуле образуется несколько таких антител, выявляющих отличающиеся антигенные детерминанты одной и той же молекулы, и, более того, в разных лабораториях идентичные антитела получили различные обозначения, то решено было все обнаруженные антигенные специфичности одной молекулы объединить под общим названием CD-антигены с определенным порядковым номером. Свое обозначение они получили от английского словосочетания cluster designation. К настоящему времени известно более 150 таких кластеров. Изучая динамику появления CD-антигенов, удалось не только четко разделить все лимфоциты на определенные популяции и субпопуляции, но и проследить процессы дифференцировки лимфоцитов, изменение поверхностных

временная экспрессия на клеточной поверхности обеспечивает определенный «запас прочности». Известно, что отсутствие синтеза LFA-1 у людей не нарушает функционирования Т-системы. Выпадение звена взаимодействия LFA-1 : ICAM компенсируется более активным включением пары CD2 : LFA-3.

Таблица 5.2.

Адгезивные молекулы, участвующие в заселении лимфоидной ткани наивными Т-клетками и генерации зрелых Т-клеток

Процесс	**Эндотелий венул**	**Антигенпрезентирующие клетки**	**Т-клетки**
Заселение лимфоидной ткани	CD34, GlyCAM-1, MAdCAM-1		L-селектин
	ICAMs		LFA-1
Взаимодействие наивных Т-клеток с антигенпрезентирующими клетками		ICAMs LFA-3 (CD58)	LFA-1 CD2

Преходящее взаимодействие наивных Т-клеток с антигенпрезентирующими клетками осуществляется низкоаффинными LFA-1. Отсутствие жесткой формы контактных отношений между клетками имеет конкретный биологический смысл. Низкая аффинность адгезина позволяет Т-клетке приходить в контакт со многими антигенпрезентирующими клетками до тех пор, пока не произойдет специфическое узнавание иммуногена соответствующим антигенраспознающим рецептором. Как только наивная Т-клетка находит «свой» иммуноген, ее перемещение в корковом слое приостанавливается. От Т-клеточного рецептора идет сигнал на LFA-1, меняющий конформацию адгезина, что приводит к усилению его аффинности по отношению к молекулам ICAM (рис. 5.8). Механизм изменения аффинности LFA-1 не известен. Вероятно, в этом процессе принимают участие ионы Mg^{2+}, но не Ca^{2+}. Возникшие изменения стабилизируют контактные отношения между антигенспецифическими наивными Т-клетками и антигенпрезентирующими клетками. В результате такая Т-клетка становится подготовленной к пролиферации и дифференцировке в зрелые антигенспецифические Т-клетки.

Подавляющее большинство наивных Т-клеток не выдерживает отбора на специфичность и покидает лимфатический узел через эфферентный лимфатический сосуд с тем, чтобы вновь вступить в процесс рециркуляции в поисках соответствующих по специфичности антигенов.

Связывание антигенспецифического рецептора с комплексом пептид–молекулы I или II класса MHC и включение в комплексообразование корецепторов CD8 или CD4 обеспечивают лишь одно из условий развития наивных Т-клеток – формирование первого сигнала к пролиферации и дифференцировке этих клеток. Чтобы специфически подготовленная клетка вышла, наконец, в процесс дальней-

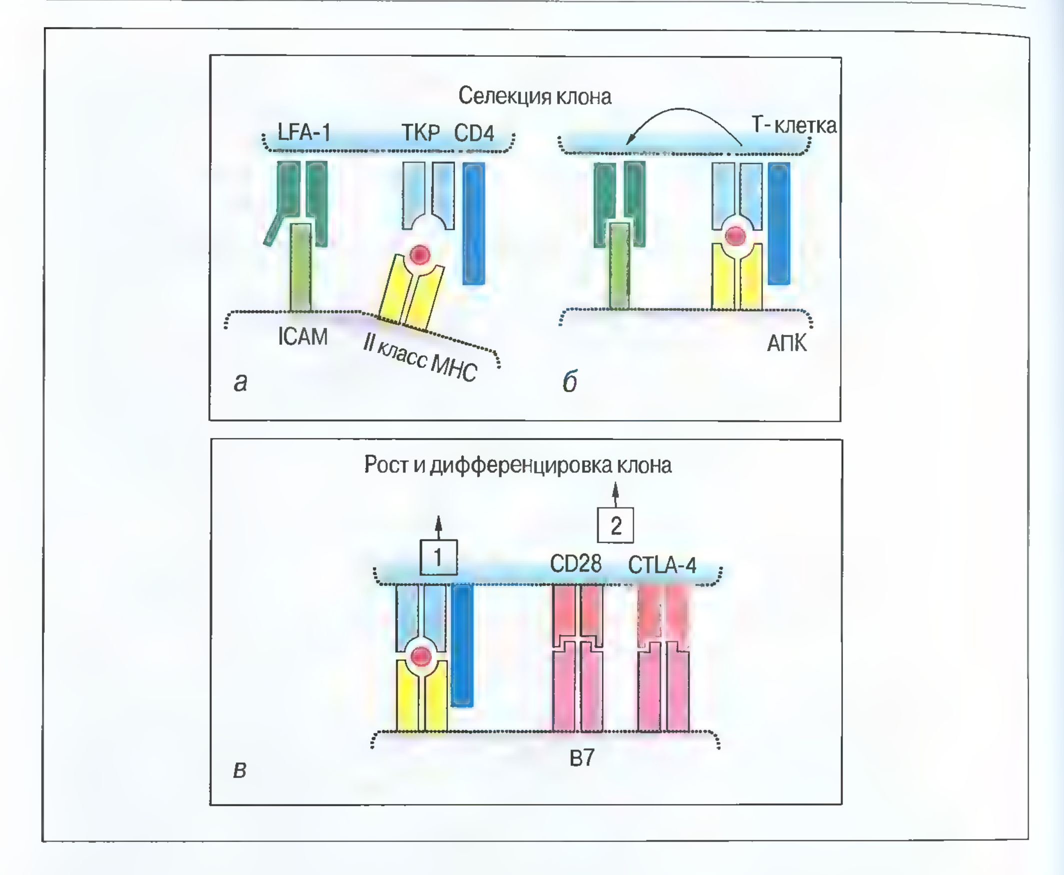


Рис. 5.8. Участие адгезинов и костимуляторов в отборе и дифференцировке наивных Т-клеток

а – проникшие в кортикальную зону наивные Т-лимфоциты неспецифически взаимодействуют с антигенпрезентирующими клетками (АПК) посредством адгезинов: LFA-1 – на Т-клетках и ICAM – на АПК. Взаимодействие LFA-1 с ICAM на этом этапе характеризуется низкой аффинностью. Если Т-клеточный антигенраспознающий рецептор (ТКР) «не находит» на АПК соответствующего по специфичности комплекса пептид–молекула МНС (на рисунке отображен пример генерации Т-хелперов), то клетка покидает АПК и вступает в процесс рециркуляции; *б* – при соответствии по специфичности ТКР комплексу пептид–молекула МНС повышается аффинность взаимодействия LFA-1 с ICAM и контактное взаимодействие Т-клетки с АПК становится достаточно прочным; *в* – взаимодействие ТКР с антигенным комплексом формирует при участии корецептора (на рисунке корецептор CD4 Т-хелперов) первый сигнал (1) к дифференцировке провзаимодействовавших клеток. Второй сигнал (2) формируется костимулятором В7, представленным на поверхности АПК, и соответствующими лигандами на Т-клетках: CD28 и CTLA-4. Только при совместном действии первого и второго сигналов происходят рост и дифференцировка наивных Т-клеток до зрелых эффекторов

шего развития, необходим второй сигнал от клеточной поверхности к геному (см. рис. 5.8). Костимулятором в данном случае выступает молекула В7, экспрессирующаяся на мембране антигенпрезентирующей клетки. В7 является гомодимером, относящимся к суперсемейству иммуноглобулинов. Его костимулирующая активность была продемонстрирована в опытах по переносу гена для этого белка в

фибробласты, которые сами по себе не относятся к антигенпрезентирующим клеткам. Внесение в культуру Т-клеток, получивших специфический сигнал об антигене, фибробластов с трансфецированным геном для В7 обеспечивало полноценное развитие специфического ответа. Рецептором для В7 на поверхности наивной Т-клетки является белок CD28, также относящийся к суперсемейству иммуноглобулинов. Взаимодействие CD28:B7 обеспечивает формирование второго сигнала. Антитела к В7, препятствующие его взаимодействию с CD28, отменяют эффект костимуляции.

Помимо CD28 активированные наивные Т-клетки синтезируют и экспрессируют еще один белок с костимулирующей активностью – CTLA-4, обладающей большей аффинностью по отношению к В7. Между CD28 и CTLA-4 высока гомология по последовательности аминокислотных остатков, а кодирующие их гены близко сцеплены в хромосоме. Ясно, что совместное костимулирующее действие этих молекул оказывает больший эффект на развитие Т-клеток.

Тот факт, что одна и та же антигенпрезентирующая клетка выполняет двойную функцию – представление антигена в иммуногенной форме и экспрессия лиганда для костимуляции, т.е. определяет формирование специфического и неспецифического сигналов для дифференцировки наивных Т-клеток в активные эффекторы, имеет большой биологический смысл. Отрицательная селекция в тимусе, очевидно, не является абсолютно безошибочным процессом. Определенные «запрещенные» клоны могут выйти в циркуляцию и стать потенциальной причиной аутоиммунного поражения. Однако, как правило, этой аутоагрессии не наблюдается, поскольку сам факт распознавания антигена, в том числе и собственного, не является единственным условием запуска дифференцировки наивных Т-клеток. Необходимо включение костимулятора, которое происходит только на антигенпрезентирующих клетках.

Дифференциальная роль различных антигенпрезентирующих клеток в инициации иммунного ответа. *Макрофаги.* Макрофаги помимо участия в неспецифической форме защиты от инфекции проявляют себя в качестве антигенпрезентирующих клеток в реакциях специфического иммунитета.

Как отмечалось выше, клетки, представляющие антиген в иммуногенной форме на мембране, должны обладать, по крайней мере, двумя основными свойствами: способностью образовывать комплекс антигенного пептида с молекулами I или II классов МНС и экспрессировать костимулятор, который обеспечивает прохождение второго сигнала при активации наивных Т-клеток.

Макрофаги в состоянии покоя обладают очень незначительным количеством молекул II класса и полностью лишены костимулятора В7 на своей поверхности. Их выраженное представительство на мембране начинается после захвата и внутриклеточного переваривания микроорганизмов.

Один из способов поглощения бактерий связан с рецепторами к маннозе, которые способны взаимодействовать с углеводами бактериальной стенки. Захваченные микроорганизмы деградируют в фаголизосомах, образуя отдельные пептиды, которые выносятся на клеточную поверхность в комплексе с молекулами МНС. Именно в процессе внутриклеточного переваривания корпускулярого антигена происходит индукция синтеза и экспрессии на клеточной поверхности молекул II класса и

костимулятора В7. Факторы индукции неизвестны. Возможно, ими являются рецепторы клеточной поверхности, взаимодействующие с микроорганизмами, поскольку синтез В7 можно индуцировать простой инкубацией макрофагов с отдельными компонентами (углеводами, липополисахаридами) бактериальной стенки.

Индукция костимулирующей активности к общим микробным компонентам позволяет иммунной системе отличать бактериальные антигены от собственных антигенов организма или безвредных, хотя и чужеродных белков. Из практической работы известно, что получение иммунного ответа к некоторым белкам возможно только с использованием адъювантов, включающих убитые микроорганизмы или продукты их бактериальной стенки. Схема возможных отношений в данном случае выглядит следующим образом. Если белковые антигены захватываются и презентируются макрофагами в отсутствие бактериальных компонентов, которые инициируют синтез В7, то Т-клетка специфически распознает антиген, однако остается рефрактерной, так как отсутствует действие второго сигнала для запуска пролиферации и дифференцировки. Внесение в систему бактериальных компонентов – индукторов костимулятора В7 – обеспечивает полноценное включение в ответ Т-клеток. В условиях эксперимента аутоиммунное заболевание легко индуцируется смесью собственных тканевых антигенов с компонентами бактериальной стенки, иллюстрируя тем самым значение костимуляции в процессе разграничения «своего» от «чужого».

Понимание того факта, что запуск Т-клеточного ответа связан с двухсигнальной системой активации, внесло ясность в работу макрофагов в качестве «мусорщиков». Купферовские клетки печени и макрофаги селезенки постоянно захватывают и разрушают отжившие клетки этих органов. При этом в отсутствие бактериальных стимуляторов экспрессируемые на поверхности фагоцитирующих клеток собственные антигены как результат деградации захваченных отживших клеток не в состоянии развить аутоиммунный ответ.

В представленных примерах иммуногенность связана не со структурными особенностями антигена, а с реактивностью организма, с потенциальными возможностями его иммунокомпетентных клеток.

Дендритные клетки. Не все патогены индуцируют синтез и экспрессию костимуляторов на поверхности макрофагов. К этой категории возбудителей инфекционнного заболевания относятся, в частности, вирусы, которые в течение эволюции адаптировались к использованию биосинтетического аппарата клетки для своего воспроизведения. Кажется, что подобная эксплуатация клеток противоречит принципам «всеобшей» защищенности организма от чужеродных антигенов. Подобное несоответствие разрешается включением в противовирусную защиту дедритных клеток.

Этот тип антигенпрезентирующих клеток обильно представлен в лимфоидной ткани и обладает выраженной и, что очень важно, постоянной экспрессией костимулятора В7, молекул I и II классов МНС, а также адгезинов ICAM-1, ICAM-3, LFA-3. Иначе, для дендритных клеток не требуется инициации поверхностных структур, принимающих участие в формировании Т-клеточного ответа. Подобная заданность иммунологически значимых молекул определяет защитный потенциал дендритных клеток. При этом они не обладают способностью к фаго-

цитозу, но легко усваивают белки и вирусные частицы посредством пиноцитоза. Еще одна особенность дендритных клеток состоит в отсутствии выборочности при столкновении с вирусами. Большинство тканей чувствительны только к ограниченному числу различных вирусов. В то же время дендритные клетки поглощают самые разнообразные вирусные частицы.

Постоянная экспрессия молекул I и II классов у этого типа клеток приводит к быстрому формированию иммуногенных комплексов вирусных пептидов с соответствующими молекулами. В результате создаются условия для включения в ответ наивных CD8 Т-клеток и CD-4 Т-клеток, дифференцирующихся в T_H1 клетки воспаления и хелперные T_H2 клетки.

Большинство вирусных белков локализуется в цитозоле клетки, где они разрушаются до отдельных пептидов в протеосомах. Особенность локализации вирусных белков обеспечивает формирование комплекса с молекулами I класса в эндоплазматическом ретикулуме и его последующего прямого транспорта к плазматической мембране. Образование комплекса с некоторыми поверхностными вирусными белками имеет иной характер. Такие белки, оказавшись в эндроплазматических вакуолях, которые содержат молекулы II класса, транспортируются к клеточной поверхности в составе этих вакуолей. Комплекс вирусный пептид–молекулы II класса будет фактором включения в ответ Т-хелперов. Таким образом, дендритные клетки являются основными в формировании как клеточной, так и гуморальной форм антивирусного иммунитета.

Особое место в формировании иммунного ответа принадлежит клеткам Лангерганса. До недавнего времени эти клетки относили к тканевым макрофагам кожи. В настоящее время считается, что этот тип клеток функционально и морфологически следует относить к предшественникам дендритных клеток. При проникновении патогена через поврежденный участок кожи среди прочих клеточных форм в реакцию изоляции микроорганизма вступают клетки Лангерганса, способные к фагоцитозу, но не экспрессирующие костимулятор В7. Мигрируя по лимфатическим сосудам в ближайший лимфатический узел клетки оседают и трансформируются в типичные дендритные клетки с поверхностным корецептором В7, что создает условия для включения в иммунный ответ CD8 и CD4 Т-клеток. Таким образом, функция этих клеток состоит в доставке антигена в регионарную лимфоидную ткань, последующей его обработке до иммуногенной формы и инициации клеточного и гуморального иммунного ответа.

В-клетки. Третьим типом клеток, способных представлять антиген в иммуногенной форме для наивных Т-клеток, являются В-лимфоциты. Если макрофаги поглощают в основном бактерии, дендритные клетки – различные вирусы, то объектом активности В-клеток являются белковые антигены, включая бактериальные токсины. Два основных свойства В-лимфоцитов определяют их потенциальную способность выступать в качестве антигенпрезентирующих клеток: это – наличие поверхностных, специфических, иммуноглобулиновых рецепторов (sIg) и выраженная экспрессия молекул II класса МНС. При этом у покоящихся В-клеток отсутствует третий обязательный компонент клеточной мембраны – костимулятор В7, однако он начинает экспрессироваться под влиянием компонентов бактериальных стенок, таких, например, как полисахариды.

Активация В-клеток начинается после взаимодействия поверхностных иммуноглобулинов с белковым антигеном (рис. 5.9). В результате эндоцитоза образовавшегося комплекса и его деградации в лизосомальных вакуолях начинается экспрессия пептидных фрагментов белка в ассоциации с молекулами II класса МНС. Активный синтез этих молекул В-клетками обеспечивает выраженное представительство комплекса пептид–молекулы II класса на поверхности клетки. При этом в работу не включаются хелперные Т-клетки, поскольку отсутствует экспрессия костимулятора В7. В условиях реального ответа к инфекционным агентам стимулятором синтеза В7 выступают компоненты клеточной стенки бактерий. Как только начинается экспрессия В7, специфически провзаимодействовавшие наивные Т-клетки вступают в процесс пролиферации и дифференцировки, образуя активные хелперные CD4 Т-клетки (T_H2). Включение в работу зрелых Т-хелперов создает условия для полноценного развития гуморального иммунного ответа.

Как и в случае с макрофагами, необходимость двойного сигнала для активации Т-хелперов является условием, контролирующим ответ В-клеток к собственным

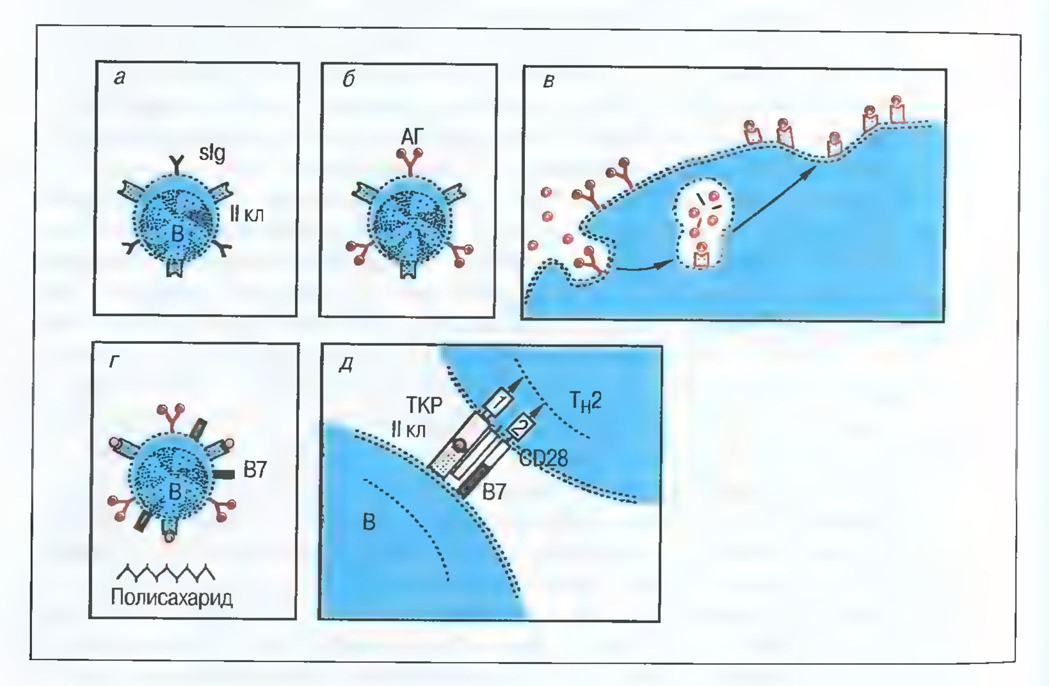


Рис. 5.9. В-лимфоцит как антигенпрезентирующая клетка

а – выраженная экспрессия поверхностного рецепторного иммуноглобулина (sIg) и молекул II класса МНС (II класс) у В-клеток; *б* – взаимодействие sIg с антигеном (АГ). Обычными для В-клеток антигенами являются белки, токсины бактерий; *в* – эндоцитоз В-клеткой комплекса антиген–sIg и презентация антигенного пептида с молекулами II класса МНС на клеточной поверхности; *г* – экспрессия костимулятора В7 на поверхности В-клетки под влиянием бактериальных полисахаридов; *д* – заключительный этап процесса – формирование двухсигнальной системы активации Т-хелперов (T_H2) при их взаимодействии с В-клетками. Первый сигнал (1) образуется от взаимодействия ТКР T_H с комплексом антигенный пептид–молекула II класса МНС. Второй сигнал (2) образуется от взаимодействия костимулятора В7 с лигандом CD28

антигенам. При отсутствии инфекции специфическое взаимодействие наивной Т-клетки с В-лимфоцитом, экспрессирующим аутоантиген, приводит к анергии или гибели соответствующего клона Т-клеток.

Итак, Т-клеточный ответ примируется тремя типами антигенпрезентирующих клеток, каждый из которых адаптирован к обработке определенного класса антигенов (табл. 5.3). Макрофаги захватывают и перерабатывают до иммуногенной формы в основном бактерии и другие корпускулярные антигены, дендритные клетки – вирусы и В-клетки – белки, включая бактериальные токсины. Существенным моментом примирования Т-клеток является необходимость двойного сигнала для созревания Т-клеточных эффекторов. Отсутствие такого сигнала является препятствием для формирования ответа к собственным антигенам. Биологический смысл подобного явления понятен. Помимо внутритимусной отрицательной селекции аутореактивных клонов существует дополнительный заслон запрещенным клонам, действующий на периферии. Этот заслон создают макрофаги и В-клетки, у которых в условиях нормы отсутствует один из ключевых костимуляторов В7.

Таблица 5.3.

Основные характеристики антигенпрезентирующих клеток

Признак	Макрофаг	Дендритные клетки	В-клетки
Характер взаимодействия с антигеном	Фагоцитоз +++	Фагоцитоз тканевыми дедритными клетками +++, эндоцитоз вирусов ++++	Взаимодействие с антигенспецифическим рецептором (sIg) ++++
Экспрессия молекул МНС	Значительно усиливается бактериями и цитокинами от ± до +++	Постоянно представлены ++++	Постоянно представлены, возрастает при активации от +++ до ++++
Экспрессия костимулирующих молекул	Индуцируется от – до +++	Постоянно представлены ++++	Индуцируется от – до +++
Презентируемые антигены	Бактерии	Вирусы	Токсины, вирусы, бактерии
Локализация антигенпрезентирующих клеток	Лимфоидная ткань, соединительная ткань, полость тела	Лимфоидная ткань, соединительная ткань, эпителий	Лимфоидная ткань, периферическая кровь

Примечание. Знак «+» – относительная сила проявления признака.

Участие интерлейкина-2 в процессе созревания Т-клеток. Встреча организма с антигеном требует быстрого формирования гуморального или клеточного иммунного ответа. Одним из основных участников реализации специфического сигнала от антигена и костимулирующего сигнала от В7 антигенпрезентирующих клеток

является интерлейкин-2 (ИЛ-2). В результате двухсигнальной активации клона наивных Т-клеток начинаются синтез и секреция этого цитокина и одновременная экспрессия на клеточной поверхности его рецептора. ИЛ-2, взаимодействуя с собственным рецептором, обеспечивает быстрое размножение и последующую дифференцировку наивных Т-клеток до зрелых эффекторов.

В процессе инициации синтеза ИЛ-2 ключевая роль принадлежит костимулятору В7. Распознавание антигена Т-клеточным рецептором индуцирует несколько транскрипционных факторов. Один из них — ядерный фактор активации у Т-клеток (англ. NF-AT), который, взаимодействуя с промотором ИЛ-2-гена, обеспечивает транскрипцию соответствующего гена. Сама по себе дерепрессия ИЛ-2-гена не приводит к активной продукции цитокина, так как цитокиновые мРНК нестабильны. При этом взаимодействие CD28 с В7 формирует сигнал, который стабилизирует ИЛ-2 мРНК. В результате такой стабилизации РНК происходит усиление синтеза ИЛ-2 в 20—30 раз. Т-клетки начинают активно пролиферировать и дифференцироваться в зрелые эффекторные клетки.

Если распознавание антигена Т-клетками происходит в отсутствие костимулирующего сигнала от В7-CD28, то продукция ИЛ-2 крайне низка и Т-клетки не могут адекватно ответить на антиген.

Важная роль ИЛ-2 в инициации специфического иммунного ответа хорошо иллюстрируется применением лекарственных препаратов, подавляющих отторжение трансплантатов. Хорошо известный в клинике циклоспорин А подавляет продукцию ИЛ-2, нарушая прохождение сигнала от провзаимодействовавшего с антигеном Т-клеточного рецептора. В результате формирование антигенспецифического клона Т-клеток подавляется, что обеспечивает длительное выживание трансплантированных органов.

Изменение экспрессии поверхностных молекул Т-клеток. Взаимодействие наивных Т-клеток с антигенным комплексом и костимулятором В7 на поверхности антигенпрезентирующих клеток инициирует полноценный синтез и секрецию ИЛ-2. Этот цитокин аутокринным способом стимулирует наивные Т-клетки к пролиферации и дифференцировке. После пролиферативной фазы, длящейся 4—5 дней, эти клетки дифференцируются в зрелые эффекторные Т-лимфоциты, которые способны синтезировать все белки, требуемые для выполнения специализированных функций. Одно из следствий прошедшей дифференцировки Т-клеток состоит в прямом их действии на чужеродные в антигенном отношении клетки без использования каких-либо костимулирующих сигналов.

Обеспечивается подобное прямое эффекторное действие количественным и качественным изменением состава поверхностных молекул у всех, независимо от деления на субпопуляции, зрелых Т-клеток. Во-первых, завершившие дифференцировку Т-клетки характеризуются усилением экспрессии LFA-1 и CD2 молекул, которые позволяют им более эффективно взаимодействовать с клетками-мишенями, экспрессирующими чужеродные антигены. Такое усиление особенно существенно для цитотоксических CD8 Т-клеток, так как большинство клеток организма характеризуется незначительным уровнем адгезинов ICAM и LFA-3, которые хорошо представлены только на антигенпрезентирующих клетках. Второе изменение касается антигенраспознающего Т-клеточного рецепторного комплекса. Тирозин-

специфическая фосфатаза (CD45), выполняющая важную функцию в передаче сигнала внутрь клетки с Т-клеточного рецепторного комплекса, представлена на поверхности Т-клеток разными изоформами. Одна из функций этих изоформ – связывание Т-клеточного рецептора с корецепторами CD4 или CD8, что обеспечивает эффективное прохождение сигнала от антигена внутрь клетки.

И, наконец, зрелые эффекторные Т-клетки теряют L-селектин, который был необходим наивным Т-клеткам при заселении лимфоидной ткани, но который оказывается не нужным и даже вредным при развитии иммунного ответа, так как мешает миграции в зону проникновения патогена. Экспрессия L-селектина заменяется интегрином VLA-4. Этот адгезин позволяет Т-клеткам связываться с сосудами в зоне воспаления и выполнять тем самым свою антигеннейтрализующую функцию (рис. 5.10).

Способы активации наивных CD8 Т-клеток. Инициация дифференцировки наивных CD8 Т-клеток в зрелые цитотоксические Т-лимфоциты осуществляется несколькими способами. Наиболее простой из них связан с дендритными клетками. Этот тип антигенпрезентирующих клеток характеризуется выраженной экспрессией костимулятора B7, что само по себе является достаточным условием активации синтеза ИЛ-2. Этот цитокин обеспечивает активную пролиферацию и дифференцировку наивных Т-клеток, используя аутокринный путь стимуляции (рис. 5.11).

В то же время цитотоксический ответ к некоторым вирусам и чужеродным трансплантатам требует присутствия CD4 Т-клеток. Возможно, это связано с недостаточной иммуногенностью вирусных и трансплантационных антигенов для формирования первого сигнала от Т-клеточного рецептора или слабой экспрессией B7, формирующего второй сигнал. При включении в ответ CD4 Т-клеток, которые способны стимулировать антигенпрезентирующие клетки к синтезу B7, создаются нормальные условия для двойной стимуляции наивных CD8 Т-клеток.

Третий способ стимуляции наивных CD8 Т-клеток к дифференцировке связан с прямым действием на них ИЛ-2, секретируемого распознавшими антиген CD4 Т-клетками. Этот способ проявляется в условиях отсутствия индуцируемой экспрессии B7 под влиянием CD4 Т-клеток. Какой из этих способов доминирует в организме при формировании цитотоксического ответа, пока неизвестно.

Дифференцировка наивных CD4 Т-клеток в T_H1 и T_H2. CD4 Т-клетки, покинувшие тимус, не могут непосредственно встать на путь созревания до зрелых эффекторов. В отличие от наивных CD8 Т-клеток, они должны пройти дополнительный этап развития на периферии, который заканчивается формированием незрелых T_H0-клеток. Именно от этих коммитированных клеток в зависимости от ситуации формируются зрелые эффекторы: T_H1 клетки воспаления и хелперные T_H2 клетки. Они не различаются по фенотипическим маркерам клеточной поверхности, но известны их разные возможности в синтезе цитокинов. T_H0 продуцируют интерлейкин-2, интерлейкин-4; T_H1 (CD4 Т-клетки воспаления) – интерлейкин-2, интерлейкин-3, гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор, интерферон-γ, фактор некроза опухолей-β (лимфотоксин); T_H2 (хелперные CD4 Т-клетки) – интерлейкины-3,4,5,6,10 и гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор. Интерлейкин-3 и гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор являются общими для T_H1 и T_H2. Эти два

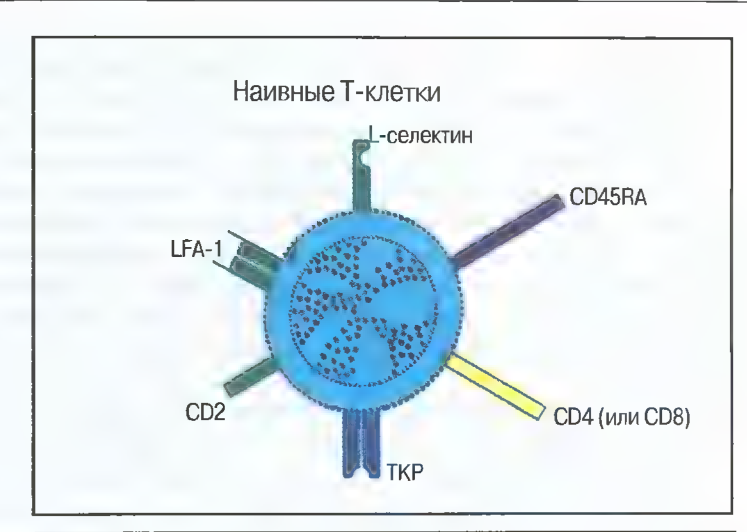




Рис. 5.10. Изменение экспрессии поверхностных молекул при дифференцировке наивных Т-клеток в зрелые эффекторы

При созревании наивных Т-клеток происходит изменение экспрессии поверхностных молекул, обладающих различными функциональными проявлениями в иммунном ответе. ТКР образует комплекс с корецептором CD4 (или CD8) при участии тирозинспецифической фосфатазы клеточной поверхности CD45; усиливается экспрессия адгезинов LFA-1 и CD2 (подобное усиление особенно важно для цитотоксических CD8 Т-клеток); появляется новый адгезин VLA-1, помогающий связыванию Т-клеток с сосудами в зоне проникновения антигена. В то же время подавляется экспрессия L-селектина, который необходим наивным Т-клеткам при заселении лимфоидной ткани, но становится помехой при миграции зрелых Т-клеток в зону проникновения антигена

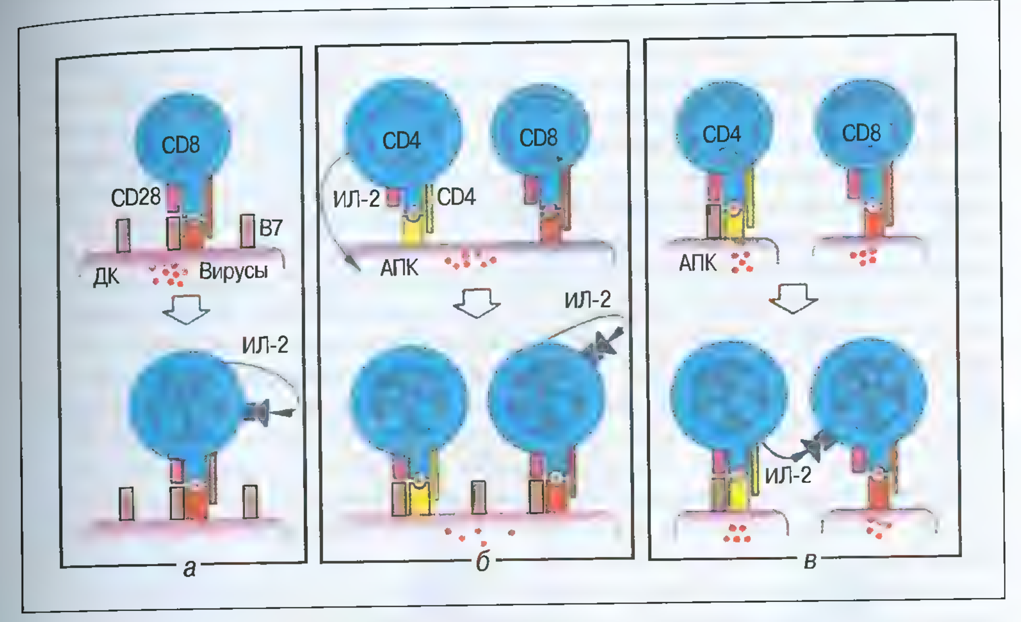


Рис. 5.11. Активация наивных CD8 Т-клеток

а– наиболее простой способ активации CD8 Т-клеток наблюдается при распознавании этими клетками иммуногенного комплекса на поверхности дендритных клеток (ДК), обладающих выраженной экспрессией костимулятора B7. Формирование второго сигнала с помощью B7 обеспечивает активную продукцию интерлейкина-2 (ИЛ-2) CD8 Т-клетками. Данный цитокин аутокринным способом активирует наивные CD8 Т-клетки к дифференцировке; *б* – в условиях, когда антигенпрезентирующие клетки (АПК) не имеют B7 на своей поверхности, в процесс активации вступают CD4 Т-клетки. Секретируемый CD4 Т-клетками ИЛ-2 после распознавания иммуногенного комплекса на поверхности АПК стимулирует экспрессию B7 этими клетками. Дальнейшее развитие событий не отличимо от первого случая; *в* – в условиях, когда CD8 Т-клетки распознают иммуногенный комплекс на клетках, не способных к экспрессии B7 даже при стимуляции, запуск дифференцировки с помощью ИЛ-2 осуществляется по принципу дистанционного управления

цитокина принимают участие в качестве факторов гемопоэтической дифференцировки в костном мозге. Остальные цитокины являются характерными только для определенной субпопуляции. Цитокины, свойственные T_H1, активируют в основном макрофаги, цитокины T_H2 – В-клетки. Активность именно этих цитокинов определяет разную эффекторную функцию двух субпопуляций.

Механизмы, направляющие дифференцировку Т-клеток в зависимости от иммунологической ситуации, пока недостаточно понятны. Однако ряд экспериментальных данных позволяет представить следующую картину. Макрофаги, захватившие бактерии или вирусы, начинают продукцию интерлейкина-12, для которого клеткой-мишенью являются наивные Т-клетки. При этом стимулированные макрофагами нормальные киллеры секретируют интерферон-γ. Два этих цитокина при совместном действии на наивные Т-клетки определяют их развитие в сторону образования CD4 Т-клеток воспаления. В то же время наивные Т-клетки, стимулированные интерлейкином-4, дифференцируются в хелперные CD4 Т-клетки. Источником интерлейкина-4 могут быть базофилы и тучные клетки. При этом интерлейкин-4 является ингибитором развития Т-клеток воспаления.

5.1.3. Эффекторное действие зрелых Т-клеток

Прошедшая постантигенная дифференцировка Т-клеток создает пул функционально активных клеток, действующих на периферии. Основные субпопуляции Т-клеток, призванные эффективно нейтрализовать чужеродный антиген, как уже неоднократно отмечалось выше, представлены цитотоксическими Т-клетками (CD8 Т-клетками), Т-клетками воспаления (T_H1) и хелперными Т-клетками (T_H2). Первые две субпопуляции обеспечивают клеточную форму защиты либо непосредственно разрушая инфицированные соматические клетки (CD8 Т-клетки), либо активизируя макрофаги к внутриклеточному разрушению паразитов (T_H1 клетки). Третья субпопуляция (T_H2 клетки), являясь производной Т-системы иммунитета, проявляет свое вспомогательное, эффекторное действие не только в клеточном иммунитете, но и при формировании гуморального иммунного ответа. Функциональная активность этой субпопуляции рассмотрена ниже в этой главе в связи с вопросами защиты организма от патогенов с помощью антител.

Активность цитотоксических Т-клеток (CD8 Т-клеток). Вирусы не имеют собственного биосинтетического аппарата и для своего воспроизведения используют клетки хозяина. Являясь внутриклеточными патогенами, они защищены от прямого действия нейтрализующих антител, и только выход во внешнюю среду в результате разрушения клетки хозяина делает их доступными для специфических иммуноглобулинов. Основным фактором, препятствующим активному размножению вирусов и инфицированию пораженного организма, являются зрелые цитотоксические Т-лимфоциты (CD8 Т-клетки). Очевидным свойством этих клеток является специфичность их действия на клетку-мишень – уничтожение только тех клеток тканей, которые поражены вирусными частицами. В этой выборочности действия заключен вполне конкретный биологический смысл. Не нарушая ткань в целом, цитотоксические Т-лимфоциты освобождают организм от вирусной инфекции, уничтожая только пораженные вирусом клетки.

Известно две формы гибели клеток: некроз и апоптоз. Первая из них связана с нарушениями в мембране или цитоплазме клеток-мишеней и не затрагивает существенно клеточного ядра. К некрозу, в частности, приводит атака клетки антителами и комплементом, что вызывает образование пор в мембране, нарушение осмотического давления в клетке, разрыву мембраны и в результате – к гибели. Некротическая гибель клеток-мишеней под влиянием зрелых CD8 Т-клеток связана в основном с перфоринами, выделяемыми из гранул цитотоксических Т-клеток после распознавания ими чужеродного антигена на инфицированных вирусом клетках (рис. 5.12).

Другая форма деструкции клетки, известная как запрограммированная клеточная смерть или апоптоз, является физиологически нормальным процессом. Она встречается при завершении периода жизни клетки, тканеобразовании, метаморфозе у многоклеточных организмов. Примером физиологически нормальной смерти является апоптоз тимоцитов, не прошедших положительную селекцию на специфичность к собственным молекулам гистосовместимости или оказавшихся реактивными к аутоантигенам при отрицательной селекции.

Первичные изменения при апоптозе связаны с фрагментацией ДНК, разрушением ядра, изменением морфологии клетки. Активированные эндогенные нукле-

азы разрывают связь между нуклеосомами, что приводит к образованию фрагментов ДНК, каждый из которых содержит около 200 пар оснований.

Наиболее раннее проявление цитотоксического действия Т-клеток касается дезинтеграции ДНК клеток-мишеней. Этот процесс инициируется эффекторными молекулами, которые выделяются CD8 Т-лимфоцитами после специфического распознавания клеток-мишеней.

Морфологическая картина развиваюшегося апоптоза складывается из первоначальной конденсации хроматина и образования везикул, которые выходят во внеклеточное пространство. На этой ранней стадии процесса клеточная мембрана еще остается целой. Позднее наблюдаются более выраженая конденсация хроматина, потеря цитоплазмы и мембраны, что и характеризует собственно клеточную смерть. Факторы, включенные в апоптоз, и в частности эндонуклеазы, могут

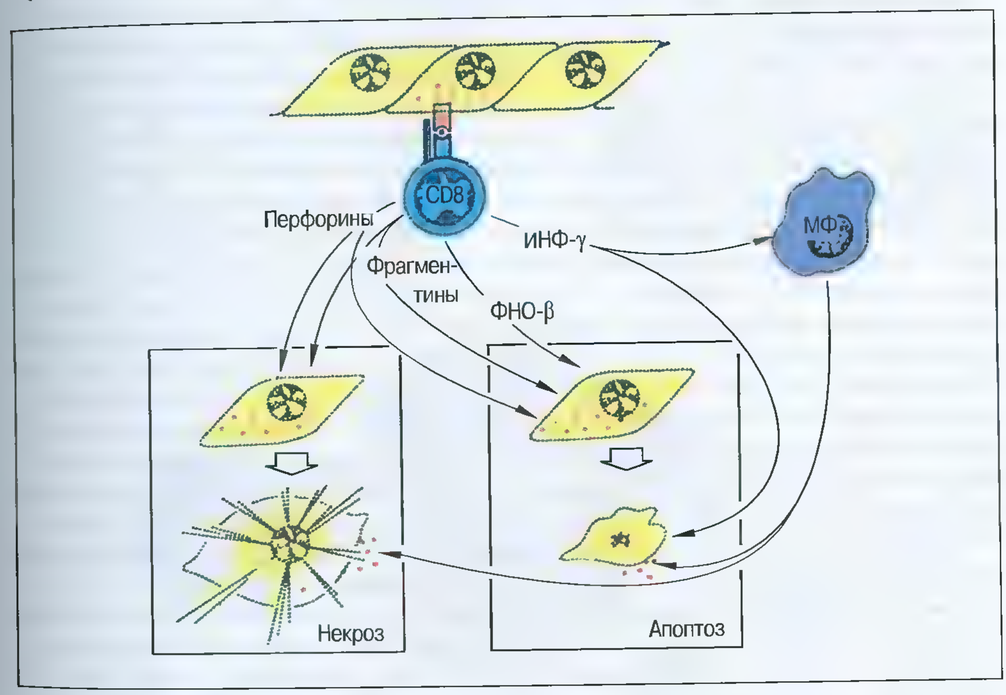


Рис. 5.12. Эффекторное действие зрелых цитотоксических Т-лимфоцитов (ЦТЛ; CD8 Т-клеток)

Действие CD8 Т-клеток на клетки-мищени, зараженных, в частности, вирусом, имеет двойное проявление. После распознавания иммуногенного комплекса на клетке-мищени CD8 выделяет целый набор эффекторных молекул, совместное действие которых вызывает либо некроз (лизис), либо апоптоз инфицированных клеток. При некрозе основными эффекторными молекулами являются перфорин и фрагментины. При апоптозе к этим молекулам добавляется фактор некроза опухолей-β (ФНО-β: лимфотоксин). Интерферон-γ (ИФН-γ) оказывает прямое ингибирующее действие на размножение вирусов. Кроме того, этот цитокин активирует макрофаги (МФ), вызывая их миграцию в зону проникновения вирусных частиц. Там активированные клетки выполняют по крайней мере две функции: как эффекторы, поглощающие и разрущающие вирусные частицы, и как антигенпрезентирующие клетки, способствуя вступлению в реакцию дополнительных CD8 Т-клеток

принимать участие в деструкции ДНК не только клетки, но и самих вирусных частиц, препятствуя их проникновению в соседние клетки.

Основной механизм, инициирующий апоптоз клеток-мишеней, связан с выделением цитотоксическими Т-лимфоцитами после специфического распознавания чужеродного антигена секреторных гранул. Эти гранулы содержат различные белки, получившие общее название цитотоксинов. Один из них – перфорин, полимеризуясь, образует поры в мембране клетки-мишени. Грензимы, или фрагментины, обладают свойствми пищеварительных белков. Секреторные гранулы содержатся во многих клетках организма (например, в панкреатических, тучных клетках). Накопление функционально активных белков способствует быстрейшей реализации их активности при получении сигнала извне. Функция перфорина состоит в образовании пор к клеточной мембране для прохождения фрагментинов. В опытах in vitro было показано, что внесение в культуру клеток только фрагментинов не вызывает развитие апоптоза. В то же время одновременное внесении незначительного количества перфорина приводит к разрушению ядерной ДНК. Участие фрагментинов в разрушении ДНК до олигонуклеотидов носит опосредованный характер, механизм которого пока не известен. Очевидным является участие в деструкции клеток-мишеней фактора некроза опухолей ФНО-β (лимфотоксина). Однако механизм его действия при апоптозе также предстоит еще изучить. Предполагается, что этот цитокин инициирует собственно процесс апоптоза, взаимодействуя с соответствующим рецептором на клетке-мишени. Другой медиатор, секретируемый CD8 Т-клетками, – интерферон-γ (ИФН-γ) – оказывает прямое ингибирующее действие на размножение вирусов, препятствуя тем самым распространению инфекции. Кроме того, ИНФ-γ увеличивает экспрессию молекул I класса МНС. Понятно, что подобное увеличение данного класса молекул обеспечивает лучшее распознавание вирусных пептидов CD8 Т-лимфоцитами на поверхности инфицированных клеток. Кроме того, ИНФ-γ способен активировать макрофаги, благодаря чему они мигрируют в зону проникновения вирусных частиц, где выступают и как эффекторные клетки, разрушая вирусные частицы, и как антигенпрезентирующие клетки, способствующие специфическому распознаванию чужеродного антигена цитотоксическими Т-лимфоцитами.

Активность CD4 Т-клеток воспаления. Для некоторых бактерий (возбудителей туберкулеза, лепры, чумы) макрофаги являются «средой обитания». Оказавшись в результате фагоцитоза в фаголизосомах, они становятся защищенными как от антител, так и от цитотоксических Т-лимфоцитов. Подавляя активность лизосомальных ферментов, эти бактерии активно размножаются внутри клетки и таким образом становятся причиной острого инфекционного процесса. Не случайно упомянутые в качестве примера заболевания относят к категории особо опасных инфекций.

В этой достаточно сложной ситуации в организме тем не менее имеются силы, препятствующие распространению возбудителей, и связаны они в первую очередь с CD4 Т-клетками воспаления. Участие данного типа лимфоцитов в организации иммунного ответа реализуется через активацию макрофагов. Активированные макрофаги не только справляются с внутриклеточными патогенами, но и приобретают в ряде случаев дополнительные свойства, не связанные с антибактериальным действием, например способность разрушать раковые клетки.

Для активации макрофагов требуется два сигнала. Первый из них – интерферон-γ (ИНФ-γ) – наиболее характерный цитокин, продуцируемый CD4 Т-клетками воспаления. Хелперные Т-клетки не секретируют данный цитокин и не могут активировать макрофаги обычным путем. Вторым сигналом для активации макрофагов служит поверхностный ФНО-α, который индуцируется к экспрессии после распознавания Т-клетками воспаления иммуногена на мембране макрофагов. Антитела к ФНО-α отменяют действие второго сигнала.

Цитотоксические Т-клетки становятся активными сразу после распознавания антигена, реализуя потенциальную готовность молекулярного аппарата к уничтожению клеток-мишеней через процесс апоптоза или некроза. Напротив, Т-клетки воспаления после распознавания антигена на поверхности макрофагов тратят часы на синтез de novo медиаторов, активирующих макрофаги. Вновь синтезированные цитокины, собранные в микровезикулы, проникают в макрофаги в месте контакта с Т-клетками. Такой прямой путь, как и в случае с цитотоксическими Т-лимфоцитами, наиболее экономичен и функционально оправдан, поскольку не затрагивает соседние, неинфицированные клетки.

В макрофагах, активированных посредством контакта с Т-клетками воспаления и в результате секреции ИФН-γ, инициируется ряд биохимических изменений, которые обеспечивают данным клеткам сильные антибактериальные свойства (рис. 5.13). Так, в условиях взаимодействия с Т-клетками воспаления

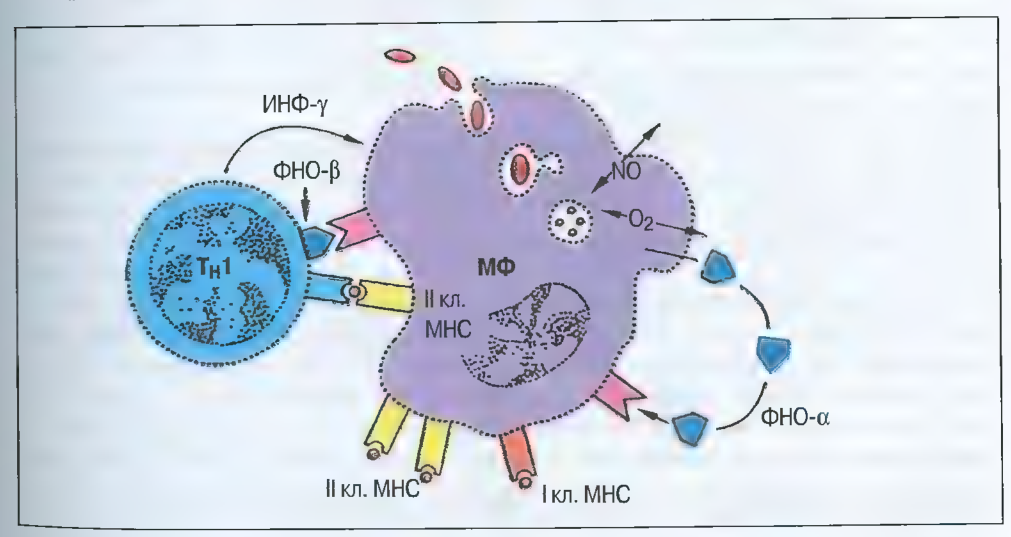


Рис. 5.13. Функциональная активность CD4 Т-клеток воспаления (T_H1)

Основным объектом действия CD4 Т-клеток воспаления являются инфицированные макрофаги. В результате распознавания иммуногенного комплекса на макрофагах CD4 Т-клетки воспаления экспрессируют на своей поверхности фактор некроза опухолей-α (ФНО-α) и усиливают продукцию интерферона-γ (ИФН-γ). Совместное действие цитокинов обеспечивают более эффективное образование фаголизосом, накопление кислородных радикалов и окиси азота, которые обладают бактерицидными свойствами, усиление экспрессии молекул II класса МНС, повышение продукции ФНО-α. Подобная активизация биохимических процессов в макрофагах не только способствует внутриклеточному уничтожению бактерий, но и обусловливает дополнительное включение Т-клеток в иммунный ответ

наблюдается более эффективное слияние фагосом, захвативших бактерии, с лизосомами — хранителями протеолитических ферментов, разрушающих внутриклеточные патогены. Процесс фагоцитоза сопровождается так называемым кислородным взрывом — образованием кислородных радикалов и окиси азота, обладающих бактерицидной активностью. В условиях костимуляции ФНО-α и ИНФ-γ этот процесс идет гораздо активнее. Кроме того, активированные макрофаги усиливают экспрессию молекул II класса МНС и рецептора к ФНО-α, что приводит к вовлечению дополнительных наивных Т-клеток. Весь этот комплекс событий обеспечивает достаточно прочный заслон от внутриклеточных патогенов.

Взаимодействующие с макрофагами Т-клетки воспаления не только способствуют усилению внутримакрофагальных биохимических процессов, но при этом сами активируются и выступают в роли организаторов многостороннего иммунного ответа на антиген.

Инфекционный процесс, провоцируемый воспроизводящимися патогенами, отражает борьбу двух начал — собственно возбудителя и иммунной системы хозяина. Например, возбудитель чумы Yersinia pestis обладает способностью к индуцируемому синтезу высокополимеризованного белка I, который начинает экспрессироваться на клеточной стенке при кислом значении pH. Известно, что в месте контакта возбудителя с макрофагом происходит локальное закисление. Это провоцирует синтез и экспрессию белка I. Данный белок, обладая сильными адгезивными свойствами, способствует более эффективному проникновению возбудителя внутрь клетки. Кроме того, этот белок помогает возбудителю избегать действия лизосомальных ферментов. Кислые условия фаголизосом поддерживают синтез данного защитного белка.

Макрофаги, хронически инфицированные внутриклеточными бактериями, могут терять способность активироваться Т-клетками. Массовое включение в процесс новых макрофагов происходит при высвобождении патогенов под влиянием синергического действия на инфицированные клетки ФНО-β (лимфотоксина) и ИНФ-γ — продуктов активированных CD4 Т-клеток воспаления (рис. 5.14; *1,2*). Это сочетание цитокинов также эффективно для гибели фибробластов — основных компонентов соединительной ткани, что обеспечивает проникновение иммунокомпетентных клеток к месту локализации инфекции. Ясно, что в условиях мобилизации иммунного ответа пул эффекторных Т-клеток должен поддерживаться на высоком уровне. Активированные макрофагами Т-клетки воспаления вовлекают дополнительные эффекторы посредством ИЛ-2, способствующего пролиферации и дифференцировке антигенспецифических Т-клеток (см. рис. 5.14; *3*). Помимо Т-эффекторов рекрутируются и сами макрофаги. Это реализуется двумя способами: во-первых, посредством индукции дифференцировки макрофагов в костном мозге под влиянием ИЛ-3 и гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ) (см. рис. 5.14; *4*); во-вторых, вновь образованные макрофаги под влиянием лимфотоксина и макрофагального хемотаксического фактора начинают миграцию из кровяного русла в очаг локализации инфекции, где они и оседают, испытывая на себе действие макрофагингибирующего фактора, снижающего их подвижность (см. рис. 15.14; *5,6*).

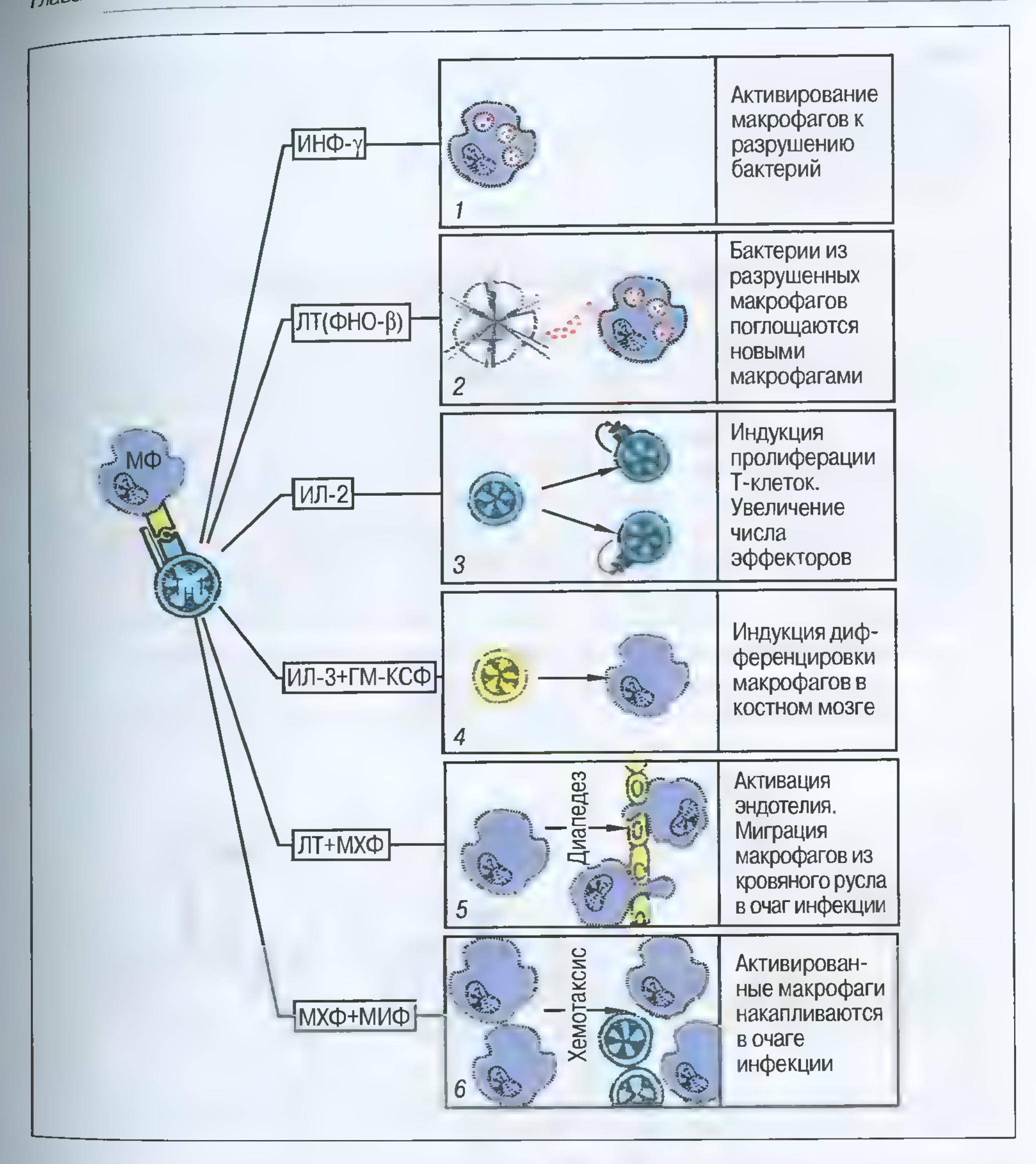


Рис. 5.14. CD4 Т-клетки воспаления (T_H1) как организаторы комплексного иммунного ответа

CD4 Т-клетки воспаления при взаимодействии с макрофагами не только активируют последние, но и сами активируются, продуцируя целый набор цитокинов и тем самым выступая в качестве организаторов комплексного иммунного процесса. Клетками-мишенями регуляторного действия цитокинов являются макрофаги (*1, 2, 4, 5, 6*), Т-клетки (*3*), прекурсоры моноцитарно-макрофагальной линии дифференцировки (*4*). ИФН-γ – интерферон-γ; ЛТ (ФНО-β) – лимфотоксин (фактор некроза опухолей-β); ИЛ-2 – интерлейкин-2; ИЛ-3 – интерлейкин-3; ГМ-КСФ – гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулируюший фактор; МХФ – макрофагальный хемотаксический фактор (фактор хемотаксиса макрофагов); МИФ – макрофагальный ингибирующий фактор (фактор ингибиции макрофагов)

Набор цитокинов, продуцируемых активированными CD4 Т-клетками воспаления после специфического распознавания патогена, обеспечивает многопрофильное развитие клеточного иммунного ответа. Таким образом, клетки рассмотренной субпопуляции выступают в качестве организаторов адекватного иммунного ответа.

5.2. Гуморальный иммунный ответ

Возбудители бактериальных или вирусных заболеваний в процессе своей жизнедеятельности в организме хозяина оказываются в той или иной ситуации во внеклеточной среде. Пребывание в жидкостях организма может быть более длительным в случае с внеклеточными патогенами или более коротким – при поражении хозяина внутриклеточными бактериями или вирусами, но оно обязательно представлено. При нормальном функционировании иммунной системы патогены и их токсины, оказавшиеся вне клеток хозяина, подвергаются действию антител – эффекторных молекул, продуцируемых В-лимфоцитами. Здесь будут представлены



Рис. 5.15. Феномены, опосредованные антителами

а – антитела препятствуют проникновению патогена в клетку, блокируя лиганды (антигены), которые взаимодействуют с рецепторами клеток хозяина; *б* – макрофаги несут на своей поверхности рецепторы к Fc-фрагменту иммуноглобулинов (Fc-РЦ). Предсуществующие антитела, взаимодействуя с антигенами патогена, опсонизируют последний и обеспечивают тем самым более эффективный его захват макрофагами; *в* – антитела, провзаимодействовавшие с бактериальной клеткой или с любыми другими корпускулярными или растворимыми антигенами, активируют белки системы комплемента (С), действие которых двояко. Во-первых, они лизируют клетку и, во-вторых, выступают в качестве опсонинов, способствуя вместе с антителами более эффективному захвату патогена макрофагами

данные, касающиеся функционирования антител, формирования клеточных и молекулярных механизмов эффекторной фазы работы В-системы иммунитета.

Участие антител в иммунном ответе проявляется в трех формах: нейтрализации, опсонизации, активации системы комплемента (рис. 5.15). Вирусы и внутриклеточные бактерии для своего воспроизведения должны первоначально проникнуть из жидкостей организма в клетку – место своей жизнедеятельности. Оказавшись, даже короткое время, во внеклеточном пространстве, патогены подвергаются нейтрализующему действию антител. Эта активность антител проявляется в блокаде рецепторного взаимодействия между патогеном и инфицируемой клеткой. Иначе, антитела препятствуют предетерминированному взаимодействию клеточных рецепторов с лигандом на поверхности патогена. Процесс нейтрализации проявляется не только в случаях с корпускулярными антигенами, но и с бактериальными токсинами.

Одним из ведущих механизмов элиминации внеклеточных патогенов является активность фагоцитирующих клеток, которые, захватывая антиген, разрушают его в фаголизосомах. Этот неспецифический по основной своей феноменологии процесс усиливается специфическими антителами. Макрофаги – главные участники внутриклеточного разрушения патогенов – имеют на своей поверхности рецептор к Fc-фрагменту иммуноглобулинов. Патоген, связавшийся со специфическим антителом, оказывается значительно более доступным для фагоцитирующих мононуклеаров в результате взаимодействия Fc-фрагмента иммуноглобулина с Fc-рецептором на поверхности фагоцита. Процесс усиления фагоцитоза за счет гуморальных факторов, вообще, и специфических антител, в частности, получил название опсонизации.

Третья форма функционального проявления антител связана с системой комплемента. Антитела, связавшиеся с поверхностью бактериальной клетки, активируют белки системы комплемента, которые принимают участие в ряде иммунологических явлений. Во-первых, взаимодействуя с патогеном, некоторые белки системы комплемента выполняют функцию опсонинов. Во-вторых, компоненты комплемента выступают в качестве хемотаксических факторов, привлекая в очаг инфекции фагоцитирующие клетки. Третье свойство белков системы комплемента связано с их литической активностью – способностью образовывать поры в клеточной стенке бактерий, что приводит к гибели патогенов.

При отсутствии антигенной агрессии специфические антитела не образуются. По этому признаку процесс антителогенеза классифицируется как индуцибельное явление. Фактором индукции выступает антиген. Однако как и в случае с Т-клетками, одного специфического сигнала от антигена недостаточно для начала синтеза антител В-клетками. Необходим второй сигнал для реализации информации от специфического индуктора. Роль второго сигнала выполняют цитокины, продуцируемые хелперными CD4 Т-клетками. Получение второго сигнала для полноценного развития В-клеток в антителопродуцирующие плазмациты возможно при непосредственном контактном Т–В-взаимодействии.

В данном разделе рассматриваются условия полноценной продукции антител В-клетками и функциональная активность антител различных изотипов.

5.2.1. Образование антител В-лимфоцитами

Участие хелперных CD4 Т-клеток в продукции антител. Впервые необходимость кооперации Т- и В-лимфоцитов при развитии гуморального иммунного ответа продемонстрировали Claman с соавторами в 1966 г. (рис. 5.16). Введение летально облученным мышам только клеток костного мозга (источника В-клеток) или только клеток тимуса (источника Т-клеток) не приводило к развитию гуморального иммунного ответа. Продукция антител находилась на крайне низком уровне. В то же время одновременная инъекция смеси этих клеток обеспечивала сильный иммунный ответ. Ответ при одновременном введении различных типов клеток

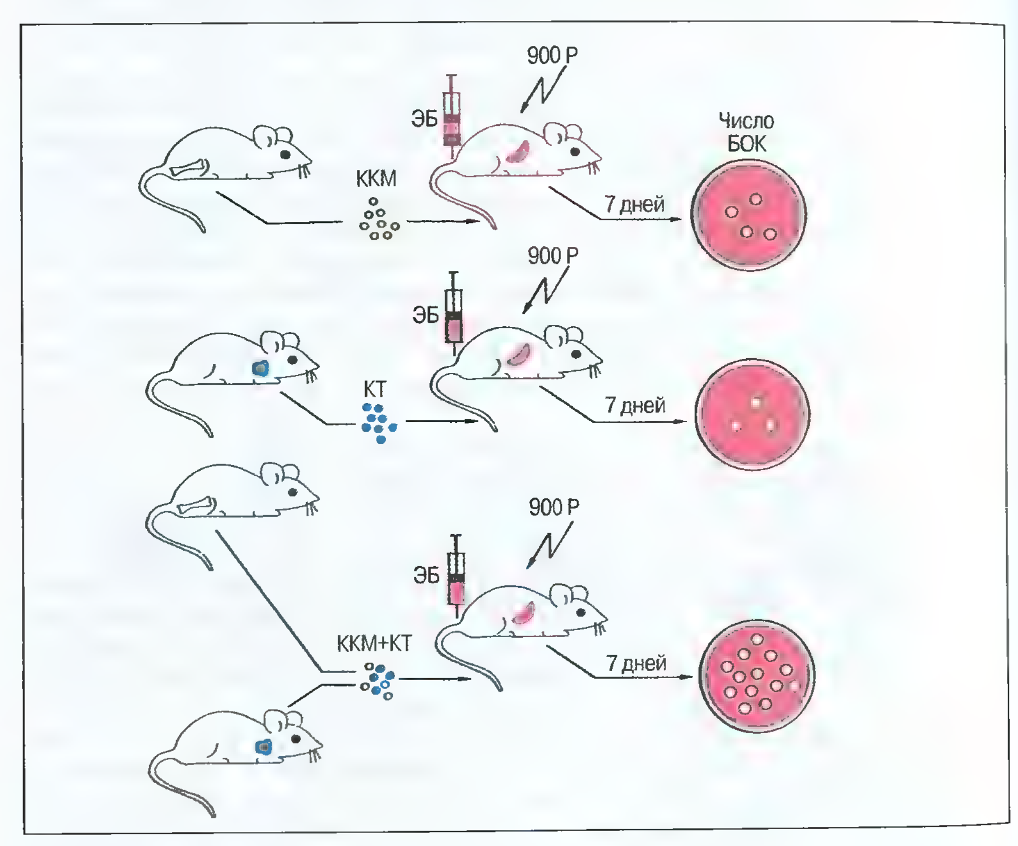


Рис. 5.16. Взаимодействие между клетками тимуса (источника Т-клеток) и клетками костного мозга (источника В-клеток) при индукции гуморального иммунного ответа (Claman et al., 1966)

Введение облученным мышам только клеток костного мозга (ККМ) или только клеток тимуса (КТ) не обеспечивает развитие иммунного ответа достаточной силы. В то же время введение смеси этих клеток приводит к интенсивной продукции антител к использованному для иммунизации антигену (эритроцитам барана – ЭБ). Причем ответ при совместной инъекции клеток значительно выше, чем сумма ответов при раздельном введении клеток различного происхождения. Иначе кооперация двух типов клеток приводит к синергическому эффекту. Ответ оценивали по количеству бляшкообразующих (антителообразующих) клеток (БОК) в селезенке

был значительно выше, чем сумма ответов при раздельной инъекции. Иначе, было показано, что при кооперации Т- и В-клеток наблюдается выраженный синергический эффект. Именно синергизм при клеточном взаимодействии вызвал наибольший интерес исследователей. Опыты Claman и соавторов определили создание целого направления исследований, задача которого – познание механизмов клеточного взаимодействия при развитии иммунного ответа.

Поверхностный иммуноглобулин (sIg) играет двойную роль при трансформации В-клеток в антителопродуцирующие плазмациты. Во-первых, подобно антигенраспознающему рецептору Т-клеток он передает сигнал о встрече с антигеном непосредственно внутрь клетки. Во-вторых, служит молекулярным фактором захвата этого антигена для переноса его в цитоплазму клетки. Там антиген разрушается до отдельных пептидов, которые в комплексе с молекулами II класса МНС выносятся на поверхность клетки. Иммуногенный комплекс является объектом распознавания антигенспецифическими хелперными CD4 Т-клетками (T_H2), которые обеспечивают второй сигнал для активации В-клеток.

Тимусзависимые и тимуснезависимые антигены (табл. 5.4). Для большинства антигенов взаимодействие хелперных Т-клеток с В-лимфоцитами является обязательным условием развития гуморального иммунного ответа. В силу этого подобные антигены (в основном белки, включая бактериальные токсины) получили название тимусзависимых антигенов.

Таблица 5.4.

Сравнительная характеристика различных классов антигенов, инициирующих гуморальный иммунный ответ

Свойство	Тимусзависимые (TD) антигены	Тимуснезависимые антигены	
		TI-1	TI-2
Примеры антигенов	Токсин дифтерии, вирусный гемагглютинин, очищенный белковый дериват (PPD) Mycobacterium tuberculosis	Бактериальный липополисахарид Brucella abortus	Полисахарид пневмококков, полимеризованный флагеллин сальмонелл, поливинил пироллидон, фиколл, коньюгированный с гаптеном
Образование антител у нормальных животных	Да	Да	Да
Образование антител у дефицитных по Т-клеткам животных	Нет	Да	Да
Примирование Т-клеток	Да	Нет	Нет
Поликлональная активация В-клеток	Нет	Да	Нет
Требование к повторяющимся эпитопам	Нет	Нет	Да

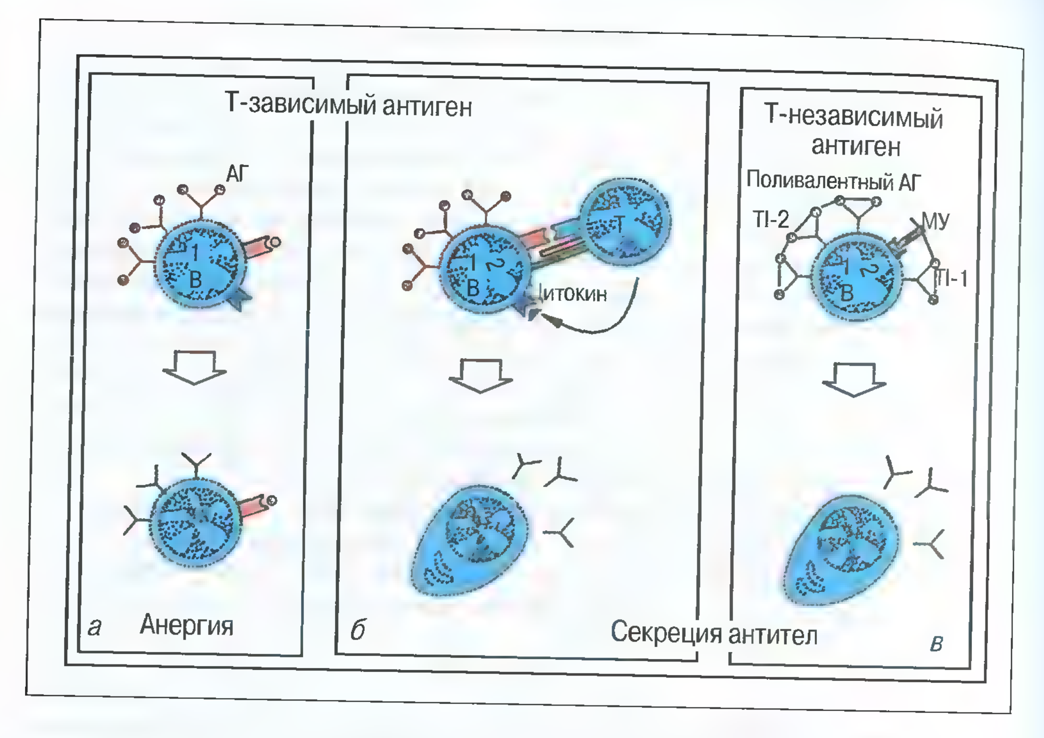


Рис. 5.17. Ответ В-клеток на тимусзависимые и тимуснезависимые антигены

а – в условиях, когда В-клетки (В) провзаимодействовали с антигеном (АГ) и не получили помощи со стороны хелперных CD4 Т-клеток (Т), развивается функциональное подавление клетки – анергия; *б* – при адекватном включении в ответ хелперных CD4 Т-клеток и формировании в результате двух сигналов для В-клеток (первый (1) от поверхностного иммуноглобулина (sIg), провзаимодействовавшего с АГ, второй (2) – от иммуногенного комплекса на В-клетках) создаются условия для полноценного развития В-клеток в антителопродуценты. Антигены, которым необходима помощь со стороны Т-клеток, получили название тимусзависимых антигенов; *в* – В-клеточный ответ может развиваться без помощи Т-клеток в тех случаях, когда он формируется на тимуснезависимые АГ (TI). Известны два класса таких АГ. К первому классу (TI-1) относятся АГ, в чью структуру включен так называемый митогенный участок (МУ), который формирует второй сигнал для В-клеток и тем самым заменяет помощь со стороны Т-клеток. Второй класс – тимуснезависимые АГ (TI-2) – представлен соединениями, в структуре которых имеются повторяющиеся гомологичные эпитопы. Многоточечное соединение этих эпитопов с поверхностными иммуноглобулинами оказывается достаточным для включения В-клеток в процесс пролиферации и дифференцировки до зрелого антителопродуцента

Животные или человек с дисфункцией тимуса не способны к полноценной продукции антител. При подобном иммунодефицитном состоянии В-клетки не получают второго сигнала от Т-клеток и переходят в состояние анергии (рис. 5.17).

Хотя для индукции антителогенеза к большинству антигенов требуются зрелые Т-клетки, многие компонентны микробов, такие как бактериальные полисахариды, липополисахарады, высокополимерные белки, могут включать В-клетки без дополнительной помощи со стороны хелперных Т-клеток. Эта категория антигенов получила название тимуснезависимых антигенов (англ. TI antigens).

Тимуснезависимые антигены подразделяются на два класса, которые активируют В-клетки разным способом. TI-1 антигены содержат характеристику, которая проявляется в прямой индукции пролиферации В-клеток. При высокой концентрации антигена в процесс пролиферации и дифференцировки вступят все В-клетки, независимо от специфичности их антигенраспознающих рецепторов. Такие антигены получили название поликлональных активаторов, или В-клеточных митогенов. Примером в данном случае может служить липополисахарид бактерий. Снижение концентрации TI-антигена на несколько порядков приводит к стимуляции только антигенспецифического клона В-клеток. Концентрационный эффект связан с наличием у TI-1 антигенов так называемого митогенного участка, который заменяет сигнал от хелперных Т-клеток. При высоких концентрация антигена, когда нет конкуренции за специфическое взаимодействие между поверхностным иммуноглобулином и эпитопом TI-1 антигена, наблюдается поликлональный ответ. В условиях, когда концентрация антигена незначительна, преимущество остается за клетками, способными к двойному распознаванию — как митогенного участка, так и антигенного эпитопа. В результате наблюдается клональная экспансия антигенспецифических В-клеток. Для TI-1 антигена не требуется многократного повторения идентичных эпитопов, так как наличие митогенного участка компенсирует отсутствие многоточечного взаимодействия, что имеет место при активации В-клеток TI-2 антигенами.

В течение обычного инфекционого процесса концентрация TI-1 антигенов незначительна. В силу этого будут активироваться только те В-клетки, которые имеют соответствующий антигенраспознающий рецептор, а продуцируемые антитела будут взаимодействовать только с TI-1 антигеном. Такой ответ развивается к ряду внеклеточных инфекций, причем он формируется быстрее, чем Т-зависимый иммунный ответ, так как не требует времени на созревание антигенспецифических хелперных Т-клеток. Скорость ответа сопряжена с несовершенством самого ответа. Он действительно напоминает «скорую помощь» в самом начале развития инфекции. TI-1 антигены, действуя самостоятельно, не способны индуцировать переключение синтеза антител с одного изотипа на другой, не оказывают влияния на повышение аффинности антител, не создают клеток памяти. Все эти процессы требуют хелперных Т-клеток.

Второй класс тимуснезависимых антигенов представлен молекулами, имеющими часто повторяющиеся идентичные эпитопы. К этому классу относятся полисахариды бактериальной стенки, сильно полимеризованные высокомолекулярные белки (например, гемоцианин). Механизм активации В-клеток связан с перекрестным сцеплением между повторяющимися антигенными эпитопами и поверхностным иммуноглобулином. Является ли ответ к TI-2 антигенам полностью независим от хелперных Т-клеток, не ясно. С одной стороны, гуморальный иммунный ответ регистрируется у дефицитных по Т-клеткам мышей линии nude. С другой — удаление из культуры in vitro всех Т-клеток приводит к подавлению ответа на TI-2 антиген. Введение незначительного количества Т-клеток иммунодефицитным мышам значительно усиливает иммунный ответ к данным антигенам. Вероятно, наиболее ранний ответ в виде синтеза IgM формируется без помощи Т-клеток. Более поздний гуморальный ответ, характеризующийся доминантным синтезом IgG, требует включения хелперных Т-клеток.

Мембранные и секреторные активаторы В-клеток. Зрелые хелперные CD4 Т-клетки, распознавшие комплекс антигенного пептида с молекулами II класса МНС, активируют В-клетки к пролиферации и дифференцировке в зрелые антителопродуценты – плазмациты. Хелперные Т-клетки после взаимодействия с В-лимфоцитами начинают экспрессировать мембраносвязанные и секреторные формы молекулярных активаторов (рис. 5.18). Наиболее важными эффекторными молекулами хелперных Т-клеток на ранней стадии активации В-клеток являются CD40L-лиганд, относящийся к семейству ФНО-цитокинов. Этот лиганд связывается с поверхностной молекулой В-клеток CD40 – аналогом рецептора к ФНО-α на макрофагах. Вторым стимулирующим В-клетки фактором является интерлейкин-4 (ИЛ-4), секреция которого хелперными Т-клетками начинается после их контакта с В-лимфоцитами. Как и в случае с инфицированными макрофагами, требующими для своей активации двух молекулярных сигналов, синтезируемых Т-клетками воспаления (поверхностного ФНО-α и секретируемого цитокина ИФН-γ), В-клетки также активируются двумя стимуляторами – поверхностным CD40-лигандом и секретируемым ИЛ-4. Однако если активация инфицированных макрофагов приводит к быстрому эффекторному действию – разрушению внутриклеточных патогенов, то начальный этап активации наивных В-клеток связан с рядом подготовительных процессов и в первую очередь с их клональной экспансией – накоплением антигенспецифического клона, который после завершения пролиферации переходит к дифференцировке в плазматическ-

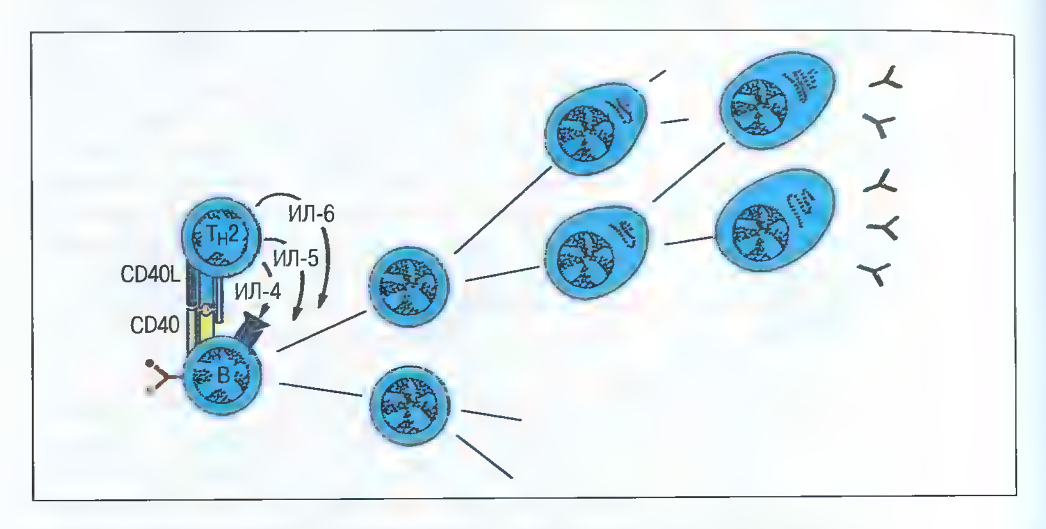


Рис. 5.18. Активация В-клеток к пролиферации и дифференцировке в плазмациты

В-клетки (В), экспрессирующие комплекс антигенный пептид–молекула II класса МНС, взаимодействуют с антигенспецифическими хелперными Т-клетками (T_H2). При этом формируются дополнительные сигналы, необходимые В-клетке для выхода в дифференцировку: первый сигнал – от взаимодействия CD40 В клеток с лигандом CD40L Т-клеток и второй сигнал – от секретируемого Т-хелперами цитокина интерлейкин-4 (ИЛ-4). Два дополнительных цитокина – интерлейкин-5 (ИЛ-5) и интерлейкин-6 (ИЛ-6), секретируемые Т-клетками, вносят свой вклад в процесс дифференцировки В-клеток на заключительных этапах развития

ме клетки, секретирующие антитела заданной специфичности. Два дополнительных цитокина – ИЛ-5 и ИЛ-6 – секретируемых хелперными Т-клетками, вносят свой вклад в процесс дифференцировки В-клеток на заключительном этапе процесса В-клеточной активации.

Переключение синтеза изотипов. По мере развития гуморального иммунного ответа синтез антител с одного изотипа переключается на другой при сохранении их исходной специфичности. В самом начале иммунного ответа доминирующим изотипом является IgM. Очень незначительное количество представлено IgD. Позднее, по мере развития антителогенеза происходит замена синтеза IgM на синтез IgG, IgA и IgE. Эти изменения в преимущественном синтезе того или иного изотипа не наблюдаются у индивидуумов с дефектом экспрессии CD40-лиганда, принимающего участие в контакном взаимодействии хелперных Т-клеток с В-лимфоцитами. При подобной форме иммунодефицита наблюдается необычно высокое содержание IgM в сыворотке крови на фоне отсутствия продукции иммуноглобулинов иных изотипов. Активная продукция IgM при недостатке Т-клеточной помощи может быть связана с ответом В-клеток на тимуснезависимые антигены. В то же время эти клинические наблюдения дополнительно демонстрируют, что для сбалансированной продукции различных классов антител необходимо включение в ответ хелперных Т-клеток.

Большинство из того, что известно о регуляции переключения изотопов, пришло из экспериментов, проведенных с мышиными В-клетками, которые стимулировались очищенными цитокинами in vitro. Эти эксперименты показали, что различные цитокины преимущественно индуцируют переключение синтеза «своих» изотипов. Так, ИЛ-4 индуцирует переключение синтеза IgM на IgG1 и IgE, в то время как ФНО-β – на IgG2b и IgA. Другой цитокин – ИЛ-5, секретируемый хелперными CD4 Т-клетками, усиливает продукцию IgA, когда переключение в геноме для синтеза данного изотипа уже произошло. Хотя CD4 Т-клетки воспаления являются плохими регуляторами синтеза антител, они принимают участие в переключении изотипов посредством секретируемого ими ИФН-γ. Этот цитокин оказывает преимущественное влияние на индукцию синтеза IgG3 и IgG2a. Данные об участии различных цитокинов в продукции антител разных изотипов суммированы в табл. 5.5.

Таблица 5.5.

Влияние цитокинов на экспрессию различных изотипов иммуноглобулинов

Цитокин	IgM	IgG3	IgG1	IgG2b	IgG2a	IgA	IgE
ИЛ-4	Ингибирует	Ингибирует	Индуцирует		Ингибирует		Необходим для индукции
ИЛ-5						Усиливает продукцию	
ИНФ-γ	Ингибирует	Индуцирует	Ингибирует		Индуцирует		Ингибирует
ФНО-β	Ингибирует	Ингибирует		Индуцирует		Индуцирует	

Таким образом, участие хелперных Т-клеток в гуморальном иммунном ответе имеет двойное проявление: во-первых, они инициируют пролиферацию и дифференцировку распознавших антиген В-клеток; во-вторых, – оказывают прямое действие на переключение синтеза антител с одного изотипа на другой.

Повышение аффинности антител в процессе формирования иммунного ответа. По мере развития иммунного ответа происходит не только переключение синтеза антител с одного изотипа на другой, но и повышается аффинность (сродство) этих антител к тому антигенному эпитопу, который вызвал их образование. Константа диссоциации «ранних» антител на два–три порядка выше, чем у «поздних» антител. Кроме того, по данным изоэлектофокусирования, известно, что на раннем этапе иммунного ответа гетерогенность антител одной специфичности выше, чем на поздних этапах процесса.

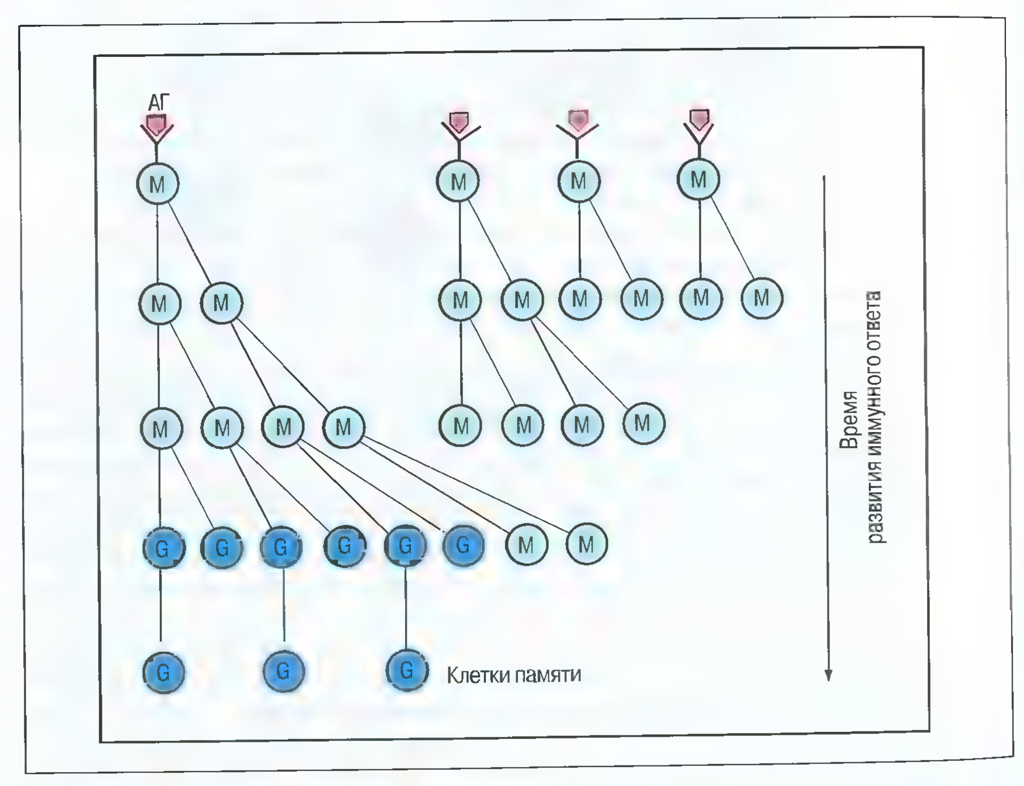


Рис. 5.19. Повышение аффинности антител в динамике развития иммунного ответа

В реакцию распознавания антигена (АГ) вступают В-клетки нескольких клонов, имеющих близкие, но тем не менее несколько отличающиеся по специфичности антигенраспознающие рецепторы. В силу этого на самых ранних этапах развития иммунного ответа пул специфических антител будет наиболее гетерогенным. Клон, имеющий антигенраспознающие рецепторы с наибольшим сродством к антигену, будет обладать селективным преимуществом в размножении, что обеспечит ускоренное накопление высокоаффинных антител. Именно в этом клоне, количественно превосходящем другие клоны, вступят в работу с большей эффективностью механизмы переключения синтеза IgM на IgG и формирования клеток памяти. Схема объясняет как большую аффинность IgG по сравнению с таковой IgM, так и преимущественный синтез высокоаффинных IgG-антител при вторичном ответе

Важным является процесс селекции антигенспецифических В-клонов. На рис. 5.19 показан один из возможных механизмов повышения аффинности антител в процессе развития иммунного ответа зрелыми В-клетками. В реакцию распознавания антигенного эпитопа вступают клетки нескольких клонов, имеющих антигенраспознающие иммуноглобулиновые рецепторы, которые несколько отличаются друг от друга по строению антигенсвязующего (активного) центра. В силу этого на самых ранних этапах иммунного ответа пул специфических антител к данному антигенному эпитопу будет наиболее гетерогенным. Клон, имеющий антигенраспознающие рецепторы с наибольшим сродством к антигену, будет обладать селективным преимуществом в размножении за счет большей энергии связи, что и обеспечит ускоренное накопление высокоаффинных антител. Именно в этом клоне вступят в работу механизмы переключения синтеза IgM на IgG и формирования клеток памяти. Схема объясняет как бо́льшую аффинность IgG, установленную экспериментально, так и преимущественный синтез высокоаффинных IgG при вторичном ответе, что также имеет экспериментальное подтверждение.

Гистологическая картина образования активных антителопродуцентов. Одной из характерных черт организации лимфоидной ткани является наличие так называемых центров размножения, которые представляют собой место пролиферации, трансформации и селекции В-клеточных клонов (рис. 5.20). В-лимфоциты, активированные хелперными Т-клетками в тимусзависимой зоне лимфоидной ткани либо сразу дифференцируются в плазматические клетки, продуцирующие ранние, суммарно низкоаффинные антитела, либо перемещаются в первичные фолликулы и образуют там центры размножения. Здесь они, во-первых, подвергаются селекции на наличие высокоаффинных антигенраспознающих иммуноглобулиновых рецепторов и, во-вторых, завершают дифференцировку в плазмациты, продуцирующие высокоаффинные антитела. Часть В-клеток с высокоаффинными рецепторами трансформируется в клетки памяти.

Первичный фолликул содержит покоящиеся В-клетки, плотно упакованные вокруг специализированных клеточных типов, называемых фолликулярными дендритными клетками. Эти клетки отличаются от дендритных клеток, активирующих Т-клетки, по крайней мере по двум признакам. Во-первых, они способны длительное время сохранять нативный антиген на своей поверхности. Во-вторых, данные клетки экспрессируют специализированную молекулу CD23, которая является лигандом для CR2 – компонента корецептора В-клеток CD19. Взаимодействующие CD23:CR2 поверхностные молекулы принимают участие в селекции высокоаффинных В-клеток.

Проникшие в первичный фолликул активированные В-клетки начинают интенсивно делиться, образуя бластные формы. Они легко определяются микроскопически по увеличенному размеру, обильной цитоплазме, диффузному хроматину. Клетки этого типа называются центробластами. Собственно первичный фолликул, накопивший центробласты, гистологически определяется как центр размножения, или вторичный фолликул. Центробласты дифференцируются в центроциты – это те же В-клетки, но прошедшие активацию Т-лимфоцитами и бластную стадию развития.

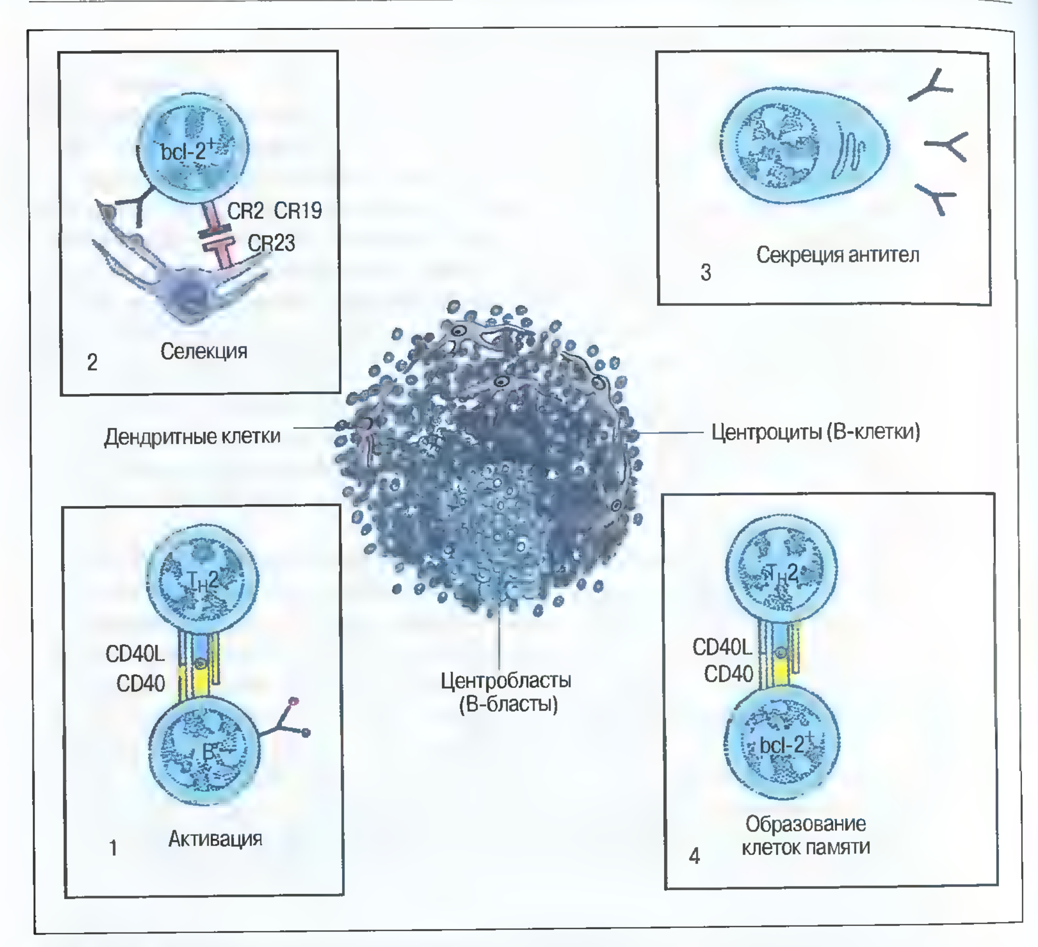


Рис. 5.20. Гистологическая картина функционального созревания В-клеток

Фолликулы лимфоидной ткани с центрами размножения представляют собой место локализации В-клеток, находящихся на разных стадиях развития. Более светлая часть фолликула – центр размножения – концентрирует бластные формы – центробласты (В-бласты). Центр окружен созревающими или созревшими центроцитами (В-клетками). В состав фолликула входят также фолликулярные дендритные клетки, которые отличаются от дедритных клеток, активирующих Т-клетки, двумя признаками: способностью к длительному сохранению нативного антигена на своей поверхности и наличием специализированной молекулы CD23. 1 – активация В-клеток (В) хелперными CD4 Т-клетками (TH2) в тимусзависимой зоне, прилегающей к фолликулу, приводит in situ к образованию из части активированных клеток ранних плазмацитов, продуцирующих антитела низкой аффинности; 2 – большая часть активированных В-клеток перемещается в центр фолликула, где начинает активно делиться, образуя бластные формы (центробласты). Микроскопически центр размножения выглядит более светлым. Накопившиеся бласты проходят отбор на повышенную аффинность антигенраспознающих рецепторов. Фактором отбора являются дендритные клетки, несущие на своей поверхности чужеродный антиген и экспрессирующие молекулу CD23. Данная молекула выступает при отборе в качестве лиганда, взаимодействуюшего с CR2-частью CD19-рецептора В-клеток. У прошедших положительный отбор В-клеток происходит дерепрессия гена bcl-2+ , продукт которого защищает В-клетки от апоптоза. Не прошедшие отбор клетки гибнут на месте, что хорошо видно с помощью микроскопа по наличию фигур апоптоза; 3 – прошедшие отбор клетки (центроциты) перемещаются на периферию фолликула, где трансформируются в плазмациты, секретирующие антитела высокой аффинности или образуют клетки памяти (4) при участии хелперных CD4 Т-клеток

Присутствующий на фолликулярных дендритных клетках антиген выступает в качестве фактора отбора центроцитов на наличие у них высокоаффинных антигенраспознающих рецепторов. Этот специфический отбор закрепляется вступлением в реакцию взаимодействия лиганда CD23 и CR2. B-клетки, не прошедшие отбора, погибают, что микроскопически также определяется по наличию апоптических клеток. Клетки, выдержавшие отбор на аффинность, экспрессируют ген bcl-2^+, продукт которого защищает клетку от апоптоза.

Прошедшие сито отбора центроциты перемещаются на периферию центра размножения, где они дифференцируются либо в активно секретирующие антитела плазмациты, либо в клетки памяти. Что является определяющим в выборе направления дифференцировки на самом заключительном этапе развития, не ясно. Предполагается, что взаимодействие только CD23 лиганда с CR2 приводит к трансформации в плазмациты. В то же время если зрелые центроциты вступят в контакт с T-клетками через взаимодействие CD40 с CD40L, то клеточная трансформация приведет к формированию клеток памяти.

5.2.2. Эффекторная функция различных изотипов антител

Три основных проявления активности антител: нейтрализация, опсонизация и активация системы комплемента, направлены на выполнение единой задачи — изоляцию и уничтожение патогена. Независимо от принадлежности антител к тому или иному изотипу, все они характеризуются строгой специфичностью по отношению к антигену, вызвавшему их образование. Различия по изотипам касаются константной части молекулы иммуноглобулинов. Именно эта часть молекулы в зависимости от конкретной иммунологической ситуации мобилизует комплекс реакций, направленный на завершение иммунного процесса — окончательное выведение чужеродного антигена из организма.

Распределение антител в организме. Наиболее обычными «воротами» инфекции являются слизистые покровы дыхательного, урогенитального, пищеварительного трактов. Раневое повреждение кожи, укусы насекомых, случайные уколы создают угрозу проникновения возбудителя инфекций непосредственно в кровоток. Во всех этих случаях чужеродные антигены инициируют развитие иммунного ответа или взаимодействуют с предсуществующими антителами. В зависимости от места проникновения антиген сталкивается преимущественно с различными изотипами антител. При этом подчас место вхождения патогена и лимфоидная ткань, где образуются антитела, удалены в организме друг от друга. Антитела, чтобы попасть в локальный очаг проникновения антигена, должны преодолеть эпителиальные барьеры.

Первыми антителами, которые образуются при иммунном ответе, являются IgM. По времени возникновения их называют еще ранними антителами. Этот изотип иммуноглобулинов характеризуется относительно низкой аффинностью, поскольку он не подвергался селекции в лимфоидной ткани, для которой требуется определенное время — около 5–6 дней от начала вступления в реакцию активированных B-клеток. Низкая аффинность IgM компенсируется количеством антигенсвязующих участков (активных центров) у молекул данного изотипа. Десять антигенсвязующих участков и высокая подвижность Fab-фрагментов обеспечива-

ют достаточно эффективное многоточечное взаимодействие IgM с корпускулярными, в частности с бактериальными, антигенами. Помимо антигеннейтрализующей активности антитела данного изотипа являются сильными активаторами системы комплемента, что также усиливает их роль в изоляции патогена.

Обычное «место действия» IgM – кровоток, однако при повышении проницаемости сосудов под влиянием вазоактивных соединений антитела данного изотипа могут проникать в места локальной концентрации антигена.

Антитела других изотипов (IgG, IgA, IgE), имея меньшую молекулярную массу и соответствующие молекулярные механизмы взаимодействия с эпителиальными клетками, значительно легче преодолевают клеточные барьеры и достаточно широко распространяются по организму из мест синтеза. Другой отличительной чертой антител этих изотипов является их большая по сравнению с IgM аффинность. Как отмечалось выше, два процесса – переключение внутриклеточного синтеза иммуноглобулинов с одного изотипа на другой и селекция клонов по признаку наибольшего сродства к антигену – требуют времени, но при этом потеря времени компенсируется повышением аффинности и проницаемостью через эпителиум у рассматриваемых изотипов, что говорит о большей их функциональной активности.

Основным изотипом в крови и внеклеточной жидкости является IgG. Он активно опсонизирует корпускулярные антигены, способствуя их захвату фагоцитирующими клетками. Кроме того, этот иммуноглобулин является достаточно сильным активатором системы комплемента.

Если IgG распространен в основном во внеклеточном пространстве тканей, где имеется доступ к вспомогательным клеткам и молекулам, то IgA представлен на слизистых поверхностях тела. Здесь необходимые вспомогательные клеточные и молекулярные элементы иммунной реактивности практически отсутствуют, и функция данного изотипа напрямую связана со свойствами самой молекулы – способностью нейтрализовать патогены, оказавшиеся на слизистой поверхности.

И, наконец, IgE представлен в очень небольшом количестве в крови и внеклеточной жидкости. Он характеризуется цитофильностью по отношению к тучным клеткам, которые локализуются под кожей, в слизистых покровах и вдоль сосудов соединительной ткани. Взаимодействие IgE, связавшего антиген, с тучными клетками приводит к выбросу из этих клеток физиологически активных медиаторов, которые провоцируют повышенную чувствительность аллергического типа к антигену. Кроме того, действие медиаторов тучных клеток проявляется также в провокации кашля, рвотной реакции и чихания, что дополнительно освобождает организм от патогена.

Транспорт через эпителиальные барьеры. Наиболее полно механизм транспорта через эпителиум изучен у IgA. Основным местом нейтрализующей активности IgA являются эпителиальные поверхности тела. В то же время плазматические клетки, секретирующие IgA, сконцентрированы главным образом в соединительной ткани, располагающейся под основной мембраной эпителиального слоя (эта соединительная ткань получила название lamina propria). Морфологическая близость не освобождает IgA от необходимости преодолевать эпителиальный барьер, с тем чтобы выйти на его поверхность, контактирующую с внешней средой. Про-

цесс транспорта через эпителий складывается из ряда этапов. Продуцируемый плазматическими клетками lamina propria IgA представляет собой димерную форму. Димер IgA связывается специфически с поли-Ig-рецептором, экспрессирующимся на базолатеральной поверхности эпителиальных клеток. После взаимодействия IgA с соответствующим рецептором комплекс IgA–поли-Ig-рецептор поглощается клеткой и транспортируется через ее цитоплазму в составе транспортной вакуоли к апикальной поверхности. После выхода на клеточную поверхность часть рецептора, связанная с мембраной, отщепляется ферментативным способом. Оставшаяся в комплексе часть, называемая секреторным компонентом, защищает димерный IgA от ферментативного разрушения. Именно в слизистых секретах эпителия и осуществляет свою нейтрализующую функцию комплекс IgA–секреторный компонент.

Особую защитную функцию IgA выполняет у новорожденных. Не имея собственных развитых механизмов гуморального иммунитета, ребенок получает этот иммуноглобулин с молоком матери и тем самым обеспечивает себе специфическую защиту от первых патогенов внешней среды. Другим гуморальным фактором защиты новорожденных является IgG. Еще при внутриутробном развитии IgG транспортируется в организм эмбриона через плаценту непосредственно в кровоток. При рождении ребенок имеет тот же уровень и тот же набор специфичностей IgG, что и его мать. Если IgA новорожденного, как и взрослого организма, – гуморальный фактор защиты от патогенов, оседающих на внешних слизистых покровах, то IgG защищает новорожденного от возможных проникновений патогенов во внутреннее межклеточное пространство.

Нейтрализация антигенов (токсинов, бактерий, вирусов). В большинстве случаев патогенез инфекционных заболеваний связан с активностью бактериальных токсинов, которые повреждают и дезорганизуют функции соматических клеток. Например, дифтерийный токсин, подавляя синтез белка, приводит к гибели эпителиальные клетки и развитию миокардита. Холерный токсин активирует аденилатциклазу, увеличивает уровень цАМФ, что является причиной изменений в кишечном эпителии и нарушений в водно-солевом обмене.

Начало интоксикации связано со способностью токсинов взаимодействовать с соответствующими рецепторами на поверхности клеток-мишеней. Этому процессу противодействуют высокоаффинные, нейтрализующие антитела, относящиеся к IgG- и IgA-изотипам. Первые из них нейтрализуют токсин во внеклеточном пространстве внутренних тканей организма, вторые – на слизистых поверхностях, имеющих контакт с внешней средой.

Для большинства токсинов способность адсорбироваться на соматических клетках организма и оказывать патологическое действие на них связаны с разными участками полипептида. Это свойство токсинов используют для приготовления вакцин. Обработка нативного токсина тем или иным способом так, что уничтожается его патологическое действие, но сохраняется способность к рецепторному взаимодействию с соматической клеткой, обеспечивает получение безвредного иммуногенного материала.

Не менее успешно нейтрализующая активность антител может проявляться и по отношению к бактериям. Многие возбудители инфекционных заболеваний,

таких, например, как туберкулез, лепра, чума, туляремия, являются внутриклеточными патогенами. Другие, как возбудитель гонореи, локализуются на поверхности эпителиальных клеток. И в первом и во втором случаях нейтрализующие антитела препятствуют возбудителям достичь мест своего оптимального существования.

Вирусы, как и некоторые бактерии, являются внутриклеточными патогенами, и механизм их проникновения в клетку аналогичен тому, который используют возбудители бактериальных инфекций. Например, вирус гриппа имеет поверхностный белок гемагглютинин, который, взаимодействуя с сиаловыми кислотами гликопротеинов, экспрессирующихся на поверхности эпителиальных клеток дыхательных путей, проникает внутрь клетки. Препятствием к вирусному заражению эпителиальных клеток являются секреторные IgA антитела.

Опсонизация и разрушение антигенов. Нейтрализация антигенов представляет собой лишь начальный этап освобождения организма от патогенов. Следующий наиболее результативный этап связан с опсонизацией корпускулярных или растворимых антигенов, их захватом фагоцитирующими или иными иммунологически активными клетками, внутриклеточное разрушение патогенов.

Процесс опсонизации, как уже отмечалось, осуществляется соответствующими специфическими антителами, взаимодействующими с антигенными эпитопами бактерий, вирусов, токсинов. Опсонизированный антиген прикрепляется к фагоцитирующей клетке через взаимодействие с поверхностными рецепторами к Fc-фрагменту иммуноглобулинов (Fc-рецептору).

Fc-рецепторы представляют собой семейство молекул, каждый член которого распознает иммуноглобулин одного или нескольких родственных изотипов (табл. 5.6). Рецепторы этого типа входят в состав суперсемейства иммуноглобулинов, что само по себе знаменательно, так как указывает на сопряженность эволюционного происхождения различных изотипов иммуноглобулинов и рецепторов к ним.

Таблица 5.6.

Рецепторы к Fc-фрагментам иммуноглобулинов различных изотипов

Fc-рецептор	**Дополнительная цепь**	**Взаимодействие с изотипом Ig**	**Экспрессия на клетках**
FcγR1 (CD64)	γ	IgG1, IgG3, IgG4, IgG2	Макрофаги, нейтрофилы, эозинофилы
FcγRII(CD32)	γ	IgG1, IgG3, IgG4, IgG2	Макрофаги, нейтрофилы, эозинофилы, тромбоциты, В-клетки
FcγRIII(CD16)	γ или ζ	IgG1, IgG3	Натуральные киллеры, нейтрофилы, эозинофилы, макрофаги
FcεRI	β или γ	IgE	Тучные клетки

Фагоциты. В организме даже при условии очень напряженного гуморального иммунного ответа количество специфических антител к тому или иному антигену

всегда значительно меньше общего количества иммуноглобулинов, постоянно циркулирующих в крови и межтканевой жидкости. Является очевидным, что в связи с подобными количественными отношениями должны существовать механизмы, дифференцирующие свободные иммуноглобулины и иммуноглобулины, связавшие антиген. При агрегировании антител на корпускулярном антигене имеется несколько Fc-валентностей для взаимодействия с Fc-рецепторами фагоцитирующих клеток. Каждая отдельная связь Fc-фрагмента антител с соответствующим рецептором, характеризующаяся низкоаффинным взаимодействием, неэффективна для провокации фагоцитарного захвата антигена. Поскольку бактериальные антигены агрегируют значительное количество антител, точек взаимодействия Fc-фрагмента иммуноглобулинов с Fc-рецептором на поверхности фагоцитирующей клетки будет много, что повышает авидность взаимодействия и, как следствие, успешное прохождение фагоцитоза.

Другой механизм связан с изменением конформации Fc-фрагмента после взаимодействия антитела с антигеном. Конформационая модификация обеспечивает повышение аффинности взаимодействия и в результате — успешное поглощение антигена. Этот последний механизм особенно важен при захвате молекулярных антигенов, таких, например, как токсины бактерий.

Процесс поглощения антигена сопряжен с активацией внутриклеточных молекулярных механизмов, направленных на разрушение чужеродных агентов. Образовавшаяся в результате поглощения опсонизированного антигенного материала фагосома сливается в клетке с одной или несколькими лизосомами, образуя фаголизосому. В фаголизосоме бактериальные и другие антигены оказываются в резко кислой среде (pH 3,5—4,0), которая сама по себе обладает бактериостатическими и бактерицидными свойствами. Кроме того, в результате фагоцитоза происходит усиленное образование кислородпроизводных продуктов и окиси азота, которые крайне токсичны для бактерий. В процесс разрушения и активного переваривания бактерий обязательно включаются антимикробные пептиды (дефенсины и катионные белки), а также основные ферменты лизосом — лизоцим и кислые гидролазы. Совместное действие всех этих механизмов приводит к успешному разрушению чужеродных антигенов до биологически инертных низкомолекулярных соединений.

Несмотря на эффективность фагоцитоза как комплексной реакции на антиген в организме имеются дополнительные клеточные механизмы, также направленные на элиминацию чужеродных агентов.

Натуральные киллеры. При вирусной инфекции помимо классических цитотоксических Т-лимфоцитов в реакцию уничтожения вирусинфицированных клеток может вступать особая субпопуляция лимфоцитов, получившая название натуральных (естественных) киллерных клеток (НК-клеток). НК-клетки представляют собой крупные лимфоциты, лишенные каких-либо маркеров Т- и В-клеток. Их содержание в периферической крови и лимфоидной ткани незначительно. Впервые эти клетки были обнаружены по их способности убивать некоторые опухолевые клетки.

Наличие на поверхности НК-клеток рецептора к Fc-фрагменту иммуноглобулинов FcγRIII, взаимодействующего с IgG1 и IgG3, предопределяет их способ-

ность реагировать с клетками, несущими специфический по отношению к соответствующим антителам антиген. В реальных условиях инфекционного процесса объектом активности антителозависимой клеточнообусловленной цитотоксичности являются клетки, инфицированные вирусом. Механизм цитотоксического действия НК клеток напоминает тот, который известен для цитотоксических CD8 Т-клеток, вплоть до выделения гранул, содержащих перфорин и гранзимы.

Тучные клетки. Когда патогены проходят через эпителиальные барьеры и образуют локальный очаг инфекции, мобилизуются защитные противоинфекционные механизмы, действующие в месте роста патогенов. Одним из факторов локальной реакции защиты являются тучные клетки. Эти клетки представляют собой достаточно крупные клеточные образования, заполненные цитоплазматическими гранулами, которые содержат вазоактивные амины.

Тучные клетки концентрируются, главным образом, в местах наиболее вероятной встречи с патогенами внешней среды: это — подслизистая ткань дыхательных путей и желудочно-кишечного тракта, соединительная ткань вдоль кровеносных сосудов.

Тучные клетки активируются в результате взаимодействия их Fc-рецептора с IgE. В отличие от рецепторов к Fc-фрагментам других изотипов антител, реакция взаимодействия FcεRI тучных клеток с IgE характеризуется высокой аффинностью. Однако такая аффинность рецепторного взаимодействия не является гарантией активации тучных клеток. Она происходит только в тех случаях, когда антиген способен за счет перекрестного сцепления образовать иммуноглобулиновые агрегаты на клеточной поверхности. Только после этого тучные клетки начинают секрецию содержимого своих гранул, что и является началом воспалительной реакции. Секретируемые из гранул вазоактивные амины гистамин и серотонин являются причиной локального увеличения кровотока и проницаемости сосудов, что немедленно приводит к накоплению жидкости в окружающей ткани и выходу клеток крови, таких как полиморфноядерные лейкоциты. В коже этот ответ реально проявляется в виде покраснения и зуда.

Гистамин и серотонин представляют собой короткоживущие медиаторы, и их количество резко снижается сразу после дегрануляции тучных клеток. Однако они успевают инициировать продукцию других медиаторов, известных как лейкотриены. Эти компоненты тучных клеток также вазоактивны и генерируют более чувствительный сосудистый ответ. Наконец, активированные тучные клетки синтезируют и секретируют ряд цитокинов, включая ИЛ-4 и ФНО-α. Последний вносит свой вклад в пролонгирование воспалительной реакции, что также способствует фиксации антигена в местах проникновения.

Первоначально воспалительная реакция с участием IgE и тучных клеток была описана как реакция аллергического типа. В настоящее время поняты ее более широкое значение как фактора сдерживания проникновения патогенов во внутренние области тела.

***

Завершение внутритимусного развития лимфоцитов приводит к созданию двух основных субпопуляций: наивных CD8 и CD4 Т-клеток. Созданный при этом по-

тенциал клоноспецифических Т-клеток еще не означает их способность моментально вступать в реакцию нейтрализации и уничтожения чужеродного антигена. До проявления эффекторной активности Т-клеток должно произойти главное событие – созревание таких клеток. Только после завершения периода постантигенного развития зрелые Т-клетки реализуют свой первоначальный потенциал.

В целом внетимусный период развития клеток включает три этапа: распознавание антигена, созревание наивных Т-клеток до активных эффекторов и собственно «работу» созревших клеток (нейтрализацию и уничтожение антигена). На каждом этапе действуют свои клеточные и молекулярные факторы, при участии которых лимфоциты проходят путь от инертных предшественников до функционально активных эффекторов.

Первая встреча наивных Т-клеток с антигеном происходит в лимфоидной ткани, ближайшей к месту его внедрения. Именно здесь происходит отбор Т-клеточных клонов по их способности распознавать чужеродный антиген.

Циркулирующие по кровяному руслу лимфоциты, попадая в лимфатические узлы, проходят через высокий эндотелий венул в паренхиму органа. Здесь наивные Т-клетки встречаются с антигеном. В процесс примирования включены три типа антигенпрезентирующих клеток: макрофаги, дендритные клетки, В-лимфоциты. Распознавание антигена на поверхности этих клеток сопровождается включением в процесс дополнительных факторов межклеточных контактных отношений – адгезинов. Функция адгезинов – усиление контакта между наивными Т-лимфоцитами и антигенпрезентирующими клетками. Совместное действие специфического компонента распознавания: Т-клеточного антигенраспознающего рецептора и неспецифического вспомогательного фактора – адгезина LFA-1 Т-клеток, определяет отбор антигенспецифического клона. Среди всех лимфоцитов, проникших в определенный лимфоидный орган, только 1 из 10^5 оказывается способным к специфическому взаимодействию. Все остальные клетки, не выдержавшие отбора на специфичность, покидают лимфоузел через эфферентный лимфатический сосуд, с тем чтобы вступить в процесс рециркуляции в поисках соответствующего по специфичности антигена.

Связывание Т-клеточным рецептором комплекса антигенный пептид–молекула I или II класса МНС – обязательное, но недостаточное условие для трансформации наивных Т-клеток в зрелые эффекторы. Необходим второй неспецифический сигнал. Костимуляторами в данном случае выступают экспрессирующиеся на поверхности антигенпрезентирующих клеток молекулы В7, относящиеся к суперсемейству иммуноглобулинов.

Факт присутствия на одной и той же антигенпрезентирующей клетке специфического иммуногена и неспецифического костимулятора имеет вполне конкретный биологический смысл. Отрицательная селекция в тимусе не свободна, очевидно, от ошибок. Какая-то часть запрещенных клонов может выйти в циркуляцию и стать потенциальной причиной аутоиммунной агрессии. Как правило, этого не наблюдается. Наивные Т-лимфоциты, распознавшие аутоантигены, остаются инертными, так как не получают второго сигнала от тканеспецифических клеток. Такие лимфоциты оказываются в состоянии анергии или гибнут через процесс апоптоза.

Двухсигнальная система активации обеспечивает синтез и секрецию ИЛ-2, который включается в процесс пролиферации и дифференцировки Т-клеток. Созревшие Т-клетки характеризуются изменением экспрессии рецепторов клеточной поверхности. Во-первых, они теряют L-селектин, который был нужен наивным Т-клеткам для первоначального заселения лимфоидной ткани, но бесполезен или даже вреден при формировании иммунного ответа, так как мешает миграции Т-клеток в зону проникновения патогена. С помощью тирозинспецифических фосфатаз, характерных для зрелых форм, организуется наиболее эффективная передача сигнала от Т-клеточного антигенраспознающего рецептора внутрь клетки. Появляется новый адгезин VLA-4, который позволяет зрелым Т-клеткам связываться с эндотелием сосудов в зоне воспаления, что крайне важно для локального развития иммунного ответа. Наконец, усиливается экспрессия исходных адгезинов LFA-1 и CD2, обеспечивающих лучший межклеточный контакт.

Постантигенное развитие завершается формированием трех функционально активных субпопуляций: цитотоксических CD8 Т-клеток, CD4 Т-клеток воспаления и хелперных CD4 Т-клеток. Первые две субпопуляции – участники клеточного иммунного реагирования, третья обеспечивает помощь гуморальному иммунитету.

Распознавание антигена зрелыми цитотоксическими CD8 Т-клетками в эффекторную фазу развития иммунного ответа инициирует синтез и секрецию цитотоксических белков, которые обеспечивают либо некроз, либо апоптоз клеток-мишеней. Наиболее активными медиаторами цитотоксического действия являются перфорин, грензимы (фрагментины), ФНО-β.

Возбудители некоторых инфекций (туберкулез, лепра, чума) используют макрофаги как «среду обитания». Локализуясь в фаголизосомах, они становятся недоступными для антител или цитотоксических Т-лимфоцитов. Единственный способ борьбы с этими внутриклеточными патогенами – усиление лизосомальной активности самих макрофагов. Помощь в стимуляции такой активности исходит от CD4 Т-клеток воспаления (T_H1), которые после взаимодействия с макрофагами начинают усиленную секрецию ИФН-γ и ФНО-γ. В результате взаимодействия активизируется процесс слияния фагосом с лизосомами, инициируется кислородный взрыв, продукты которого токсичны для внутриклеточных патогенов, увеличивается экспрессия молекул II класса MHC, что способствует вовлечению в ответ новых Т-клеток воспаления.

Т-клетки воспаления не только активируют внутримакрофагальные биохимические процессы, но и сами оказываются активированными со стороны взаимодействующих с ними фагоцитирующих мононуклеаров. В результате Т-клетки секретируют большой набор цитокинов, выступая в роли организаторов иммунного реагирования.

В целом весь путь развития и функционирования Т-клеток от первичного знакомства с антигеном до его уничтожения представляет собой многоступенчатое явление с включением в процесс широкого набора клеточных и молекулярных структур.

Итак, завершение внутритимусного развития лимфоцитов приводит к созданию двух основных субпопуляций: наивных CD8 и CD4 Т-клеток. Созданный при этом потенциал клоноспецифических Т-клеток еще не означает их способ-

ность моментально вступать в реакцию нейтрализации и уничтожения чужеродного антигена. До проявления эффекторной активности Т-клеток должно произойти главное событие — созревание таких клеток. Только после завершения периода постантигенного развития зрелые Т-клетки реализуют свой первоначальный потенциал.

Гуморальный иммунный ответ есть функция В-клеток, трансформирующихся в активные продуценты антител — плазмациты. Образуемые этими клетками антитела выполняют три основные задачи. Во-первых, они нейтрализуют антиген. Эта способность антител особенно важна при обезвреживании бактериальных токсинов. Во-вторых, антитела выступают в качестве опсонинов. Взаимодействуя специфически с антигенными эпитопами бактериальной стенки, антитела создают условия для лучшего захвата патогена фагоцитирующими клетками, которые несут на своей поверхности рецепторы к Fc-фрагменту иммуноглобулинов. И, наконец, комплекс антигена с антителом активирует белки системы комплемента, которые в свою очередь выполняют несколько функций: неспецифически опсонизируют антиген, формируют поры в клеточной стенке корпускулярных антигенов, определяя их гибель, выступают в качестве хемоаттрактантов, привлекая в зону проникновения патогены клетки воспаления.

Как и в случае с Т-клетками, В-лимфоциты, закончившие дифференцировку в костном мозге и частично на периферии, создают лишь защитный потенциал будущей встречи с антигеном. Примированная антигеном В-клетка должна пройти путь дополнительной дифференцировки до функционально активного плазмацита. На этом пути совершаются главные события, обеспечивающие специфический синтез антител.

Поверхностный иммуноглобулин В-клеток несет двойную нагрузку в процессе созревания плазмацитов. Во-первых, он выполняет роль антигенраспознающей структуры, передавая сигнал о встрече с антигеном внутрь клетки. Во-вторых, служит фактором захвата антигена для его переноса внутрь клетки. После внутриклеточной переработки антигенные пептиды в комплексе с молекулами II класса МНС выносятся на клеточную поверхность. Иммуногенный комплекс распознается антигенспецифическими хелперными Т-клетками, которые и обеспечивают второй сигнал для В-клеточной пролиферации и дифференцировки. В процесс функционального созревания В клеток включаются также цитокины и мембраносвязанные белки Т-лимфоцитов. Существенным моментом процесса определения антигена является феномен сцепленного распознавания. Суть его состоит в следующем. При инициации иммунного ответа на сложный антиген взаимодействующие В- и Т-клетки должны узнать этот антиген, но не обязательно те же самые антигенные эпитопы. Это явление получило название сцепленного распознавания.

По мере развития гуморального иммунного ответа от момента определения антигена до наиболее активной продукции антител происходят, по крайней мере, два важных события: переключение синтеза антител с одного изотипа на другой и повышение аффинности синтезируемых антител. Местом развития этих событий являются вторичные фолликулы или зародышевые центры лимфоидной ткани. На периферии фолликула происходят распознавание антигена В-клетками и его пред-

ставительство на поверхности клетки в иммуногенной форме после внутриклеточной переработки. На этом этапе в процесс формирования гуморального иммунного ответа вступают хелперные Т-клетки. В-лимфоциты, активированные Т-хелперами, либо сразу дифференцируются в плазмациты, продуцирующие ранние, суммарно низкоаффинные антитела IgM класса, либо перемещаются в первичный фолликул, образуя центры размножения. В процесс примирования на периферии фолликула вступает несколько клонов В-клеток, имеющих близкие по специфичности антигенраспознающие рецепторы. Клетки этих клонов, переместившиеся в центры размножения, подвергаются отбору по признаку высокой аффинности их рецепторов. Фактором отбора выступает антиген, экспрессирующийся на поверхности фолликулярных дендритных клеток. В-клетки, не прошедшие отбора на высокую аффинность антигенраспознающих рецепторов, погибают. Клетки, обладавшие высокой рецепторной аффинностью, дифференцируются либо в плазмациты, либо в клетки памяти. Каков механизм выбора направления дифференцировки на заключительном этапе развития В-клеток, не ясно. Предполагается, что определяющим моментом в данном процессе является повторное взаимодействие прошедших селекцию В-клеток с хелперными Т-лимфоцитами. Именно при их участии создается пул специфических В-клеток памяти.

Параллельно отбору на степень сродства антигенраспознающих рецепторов В-клеток к тому или иному антигену синтеза антител переключается с одного изотипа на другой. Процесс переключения реализуется при участии цитокинов, продуцируемых в основном хелперными Т-клетками. При этом индукция одного из изотипов происходит при одновременной ингибиции других, так что в данный конкретный момент развития иммунного ответа секретируется только один из возможных изотипов.

Т- и В-системы иммунитета, представленные в организме человека и животных, выполняют одну общую функцию — элиминацию чужеродных в антигенном отношении биологических структур. При этом две эти системы реагируют в основном на разные по своей природе антигены. Так, функция Т-системы направлена в основном на уничтожение клеточного антигенного материала (чужеродных трансплантатов, раковых и вирус-трансформированных клеток). В то же время В-система реализует свою активность по отношению к бактериальным антигенам. Понятно, что подобная функциональная градация систем в связи с характером антигенного материала не имеет абсолютного значения. Ни одна из систем не работает полностью автономно, подтверждая тем самым известное суждение о том, что в биологии принцип «все или ничего» не имеет места. Например, основными эффекторами трансплантационного отторжения являются цитотоксические CD8 Т-клетки. Однако гуморальное звено отторжения в виде специфических антител также представлено. Другой пример: антибактериальная активность В-системы реализуется в полной мере только при подключении к ответу хелперных CD4 Т-клеток и CD4 Т-клеток воспаления.

В целом эволюционно возникшая и развившаяся иммунная форма защиты организма со всем многообразием клеточных и молекулярных участников явления создает мощный заслон от любого чужеродного в антигенном отношении материала, с которым может столкнуться организм в течение индивидуальной жизни.

Часть II. ЭВОЛЮЦИЯ ИММУНИТЕТА

Глава 6. НЕСПЕЦИФИЧЕСКИЙ КЛЕТОЧНЫЙ И ГУМОРАЛЬНЫЙ ИММУНИТЕТ У БЕСПОЗВОНОЧНЫХ

У беспозвоночных так же, как и у позвоночных животных, поврежденные участки внешних покровов могут служить «воротами» для проникновения возбудителей инфекционных заболеваний. Многие беспозвоночные имеют эффективные физические и физико-химические барьеры, которые защищают их внутренние ткани от инвазии патогенов. Эти барьеры представлены внешним скелетом кораллов и членистоногих, кальцинированными раковинами двустворчатых и брюхоногих моллюсков. Кроме того, к барьерным факторам защиты относятся секретируемая слизь кишечнополостных, кольчатых червей, моллюсков, оболочников и др. Так, слизь анемоны Anthopleura elegantissima (тип кишечнополостных) содержит энзим, напоминающий лизоцим по способности разрушать Micrococcus lysodeikticus. Слизь, покрывающая Saccoglossus horsti (тип полухордовые), также обладает антибактериальными свойствами. Установлена дифференциальная способность слизи сипункулид Sipunculus nudus распознавать и лизировать микроорганизмы.

Другой крайне эффективный барьер от микробной инвазии у высших беспозвоночных – кишечник с его повышенной кислотностью, набором гидролитических ферментов и бактерицидных веществ. Например, многие бактерии, которые убивают насекомых в низких дозах при введении непосредственно в гемоцель, терпят неудачу при введении per os даже в очень высоких концентрациях.

При возникновении ран у большинства целомических животных их заживление включает несколько форм реактивности, которые в разных группах животных могут быть представлены в том или ином сочетании.

1. Закупорка раны выходом жирового тела или других органов в раневое отверстие в результате мышечного сокращения (как это имеет место у моллюсков и кольчатых червей), коагуляцией гемолимфы.
2. Миграция лейкоцитов к месту ранения, где они агрегируют, чтобы закрыть рану, инкапсулируют и подвергают фагоцитозу поврежденные ткани и проникшие патогены.
3. Дифференцировка лейкоцитов с целью образования непроницаемого для внешних агентов слоя, например коллагена.
4. Нарост эпителиальной ткани на раневые участки и образование посредством этого процесса новых тканевых слоев.
5. Формирование новых кутикулы, эктодермы, эпителия.

Многие из перечисленных явлений в процессе заживления ран сходны с воспалительными реакциями, встречающимися у позвоночных после повреждения поверхностной ткани. Более того, как и у позвоночных, ряд событий при заживлении ран у беспозвоночных опосредуется лимфокинами (или цитокиноподобными молекулами), такими, например, как фактор морской звезды Asterias forbesi или фактор повреждения у насекомых.

Все формы реагирования при неспецифической клеточной форме реагирования можно разделить на шесть категорий, которые имеют разную степень проявления у представителей различных филумов животных.

1. Коагуляция гемолимфы и тромбирование раны клетками крови посредством агрегации.
2. Фагоцитоз.
3. Образование узелков.
4. Инкапсуляция.
5. Цитотоксические реакции при контакте с чужеродным материалом (табл. 6.1).

Таблица 6.1.

Формы неспецифической клеточной защиты у беспозвоночных

Тип животных	Тромбирование раны без коагуляции плазмы	Тромбирование раны с коагуляцей плазмы	Фагоцитоз	Образование узелков	Инкапсуляция	Цитотоксическая реакция
Губки	–	–	+	+	+	+
Кишечнополостные	+	–	+	+	+	+
Кольчатые черви	+	–	+	+	+	+
Моллюски	+	–	+	+	+	+
Членистоногие	+	+	+	+	+	+
Иглокожие	+	–	+	+	+	+
Оболочники	+	–	+	+	+	+

Общепризнанным является представление о том, что у беспозвоночных отсутствуют иммуноглобулины, основное свойство которых – специфическое распознавание и нейтрализация чужеродных антигенов. Гуморальная защита беспозвоночных осуществляется целым набором неспецифических растворимых факторов гемолимфы. Неспецифичность факторов определяется тем, что они реагируют не только с агентом, вызвавшим их более активную продукцию, но и с гетерологичными антигенами.

В то же время иммунологов никогда не покидало стремление выявить нечто аналогичное или, может быть, даже гомологичное тем специфическим иммуноглобулиновым структурам, которыми обладают позвоночные животные.

Белки гемолимфы, способные обеспечивать гуморальную защиту беспозвоночных от различных патогенов, делят на комплементподобные факторы, лизины, агглютинины (лектины), антимикробные факторы. Подобная градация подчас относительна и отражает лишь характер условий, при которых выявлена их активность. При специальных сравнительных исследованиях удавалось показать, что одно и то же вещество может обладать разными феноменологически проявляемыми свойствами. Так, у мечехвоста Limulus polyphemus гемагглютинин не только взаимодействует с гетерологичными эритроцитами, но проявляет себя и как антибактериальное соединение. Показана также сопряженность антибактериальных и гемолитических свойств у дождевого червя Eisenia foetida. Факторы, обладающие этими свойствами, относятся к группе липопротеинов. Имеются и другие примеры, которые будут описаны в связи с темой данной главы.

6.1. Клеточный иммунитет

6.1.1. Коагуляция и тромбирование раны клетками гемолимфы

Тромбирование раны без коагуляции плазмы. Этот процесс является комплексным и включает мышечное сокращение, увеличение числа циркулирующих клеток за счет клеточного размножения, иммиграцию клеток крови к месту поражения. Следствием подобных событий является агрегация клеток в месте поражения и эффективная закупорка раны. Подобные процессы встречаются у кольчатых червей, моллюсков, иглокожих, оболочников. Описаны подобные процессы и у низших беспозвоночных, таких как кишечнополостные. У морской анемоны закрытие раны длится несколько часов и в отличие от целомических беспозвоночных у них не наблюдается массивных геморрагий.

У кольчатых червей начальный этап реакции включает быстрое сокращение круговой мышцы вблизи повреждения. Такая острая реакция необходима для того, чтобы препятствовать потере жидкости тела до минимума, а также предотвращать проникновение инфекционных агентов уже в самом начале поражения. Уменьшение раневого пространства облегчает в последующем заживление раны. У большинства видов кольчатых червей не происходит коагуляции плазмы.

Как поверхностные раны, так и более глубокие повреждения, захватывающие целом, закрываются у полихет и олигохет раневой пробкой, состоящей из агрегированных гемо- и целомоцитов, часто образуя белый рубец. В процессе заживления ран целомоциты мигрируют через мышечную ткань к участку поражения. На примере работы с полихетой Nephthys sp. получены данные об увеличении pH у края образовавшейся раны, что создает щелочной градиент, вдоль которого мигрируют целомоциты.

У пиявок заживление ран осуществляется также мигрирующими клетками, появляющимися в пораженных наружных покровах, соединительной ткани, мышц. Среди мигрирующих клеток хорошо представлены фагоциты.

У моллюсков закупорка раны так же, как и у кольчатых червей, осуществляется мышечным сокращением, образованием пробки из клеток крови. При этом коагуляции плазмы не происходит. У Limnea stagnalis на границе раны мигрировавшие клетки крови активно фагоцитируют микроорганизмы и поврежденные ткани. У гастропод и двустворчатых моллюсков прочность клеточной пробки усиливается образованием коллагена, который секретируется гемоцитами или мышечными клетками. При изучении in vitro агрегации гемоцитов показано, что этот процесс зависит от ионов Ca^{2+}.

Процесс тромбирования раны у иглокожих характеризуется теми же основными событиями, что и у кольчатых червей и моллюсков: мышечным сокращением, образованием тромба, отсутствием коагуляции плазмы.

Тромбирование раны включает также образование фиброидной сети. Ее формирование обусловлено веществами слизи, которые выделяются вибрирующими клетками.

Заживление ран с участием клеток включает также гуморальные факторы. Так, при работе с лейкоцитами Asterias forbesis описан «фактор морской звезды», который принимает участие как в привлечении клеток в зону поражения, так и в агрегации этих клеток, что приводит в конечном счете к закупорке раневого отвер-

стия. Имеются также данные о существовании в плазме иглокожих Ca^{2+}- и Mg^{2+}-зависимого фактора, который обеспечивает агрегацию клеток.

Гуморальные компоненты плазмы, способствующие тромбировапнию ран через процесс клеточной агрегации, описаны также у оболочников.

Тромбирование раны с включением коагуляции плазмы. Коагуляция плазмы в результате повреждения наружных покровов хорошо представлена у членистоногих, хотя даже в этом типе у некоторых видов может отсутствовать.

Начальная стадия закрытия ран у членистоногих сходна с той, которая описана у позвоночных, обладающих способностью коагулировать плазму при заживлении раневого участка. В процессе агрегации клетки членистоногих уменьшаются в размере. Образовавшееся межклеточное пространство заполняется коагулировавшей плазмой, что создает прочную гемоцитарную пробку. Такой процесс в той или иной степени представлен у паукообразных, ракообразных, насекомых.

Коагуляция плазмы имеет явно антибактериальный характер. Например, описано явление свертывания плазмы в присутствии грамнегативных бактерий у мечехвоста Limulus polyphemus. Система коагуляции реагирует на очень незначительное количество эндотоксина E. coli (0,004 мкг/мл), что послужило основой для разработки клинического экспресс-метода обнаружения малых количеств эндотоксина в биологическом материале.

На основании изучения коагуляции у мечехвоста выяснены некоторые этапы процесса коагуляции. Установлено, что амебоциты L. polyphemus обладают белком клеточной поверхности, который способен взаимодействовать с минимальным количеством эндотоксина. Такой провзаимодействовавший белок активирует гидролиз циклического АМФ фосфодиэстеразой. Сам белок сходен с калмодулином и может быть включен в процесс дегрануляции амебоцитов за счет уменьшения уровня циклического АМФ. Выяснено, что разрушение внутриклеточных гранул зависит от включения положительно заряженных ионов при поверхностных событиях. В результате коагулиноген выделяется из гранул и переходит в плазму, где превращается в нерастворимую форму — коагулин. В этом процессе принимает участие фермент сериновая протеаза, которая в свою очередь активируется протеазами, индуцированными эндотоксином. Ясно, что именно эндотоксин грамотрицательных бактерий запускает каскад реакций, вызывающих коагуляцию плазмы.

Несмотря на то что коагулин беспозвоночных отличается от фибрина млекопитающих, общий характер событий, приводящий к образованию тромба, у этих животных сходен. Процессы, описанные выше, имеют место и у насекомых.

6.1. 2. Фагоцитоз

Фагоцитоз — наиболее древний и общий клеточный механизм, который совместно с естественными гуморальными факторами обеспечивает мошную линию неспецифической защиты от патогенных микроорганизмов.

Процесс захвата чужеродного материала у большинства беспозвоночных с циркулирующей системой осуществляется амебоцитами, которые, очевидно, представляют собой прямых потомков блуждаюших клеток губок и кишечнополостных. У губок такими клетками являются, в первую очередь, археоциты мезоглеи. Фагоцитозу как in vivo, так и in vitro подвергается очень широкой набор

самых разнообразных микроорганизмов и инертных частиц. В табл. 6.2 в качестве примера приведены данные о поглощении самого разнообразного материала фагоцитами десятиногих раков.

Таблица 6.2.

Фагоцитоз гемоцитами десятиногих раков различных веществ и микроорганизмов

Вид	Объект фагоцитоза
40 различных видов	Китайская тушь
Palaemonetes intermedius (креветки)	Бактериофаг Т2, эритроциты, дрожжи
P. pugio (креветки)	Клеточный дебрис
Parachaeraps bicarinatus (рак)	Диоксид тория, китайская тушь, грамотрицательные бактерии
Orconectes viridas (рак)	Частицы латекса
Homarus americanus (омар)	Грамположительные бактерии
Carcinus maenas (краб)	Китайская тушь, коллоидная сера, грамотрицательные бактерии, амеба (Paramoeba perniciosa)
Callinectes sapidus (краб)	Бактериофаги Т2, Т4, реоподобный вирус, рабдоподобный вирус, бакуловирус, вирус мембраны ядра, грамположительные бактерии, амеба (Paramoeba perniciosa)

Не выявлено каких-либо количественных отношений между числом фагоцитирующих клеток в гемолимфе и таксономическим положением той или иной группы животных. Так, у кольчатых червей более 20% клеток могут быть фагоцитирующими. У ракообразных имеются виды с крайне низким содержанием фагоцитирующих клеток – всего 1–2%, и виды, у которых количество этих клеток значительно больше – около 28%. У насекомых колебания количества фагоцитов от вида к виду составляют 3–25%. Значительные вариации в количестве клеток, способных к фагоцитозу, зарегистрированы у моллюсков. Их диапазон составляет от 30 до 100%. Остается неясным, являются ли столь выраженные колебания от вида к виду внутри крупных таксонов отражением истинных различий видового характера или же они связаны с условиями проведения экспериментов, поскольку уровень фагоцитоза прямо зависит от времени инкубации, температуры, сбалансированности среды культивирования, характера объекта фагоцитоза. Кроме того, интенсивность фагоцитоза зависит от наличия (или отсутствия) факторов активации основного процесса (например, опсонизации). Иллюстрацией подобных отношений могут служить работы, выполненные с клетками ракообразных Astacus astacus и Carcinus maenas. Эти авторы вскрыли причину отличия их данных от результатов исследования, которые показали низкий фагоцитарный индекс для представителей класса ракообразных. Установлено, что оптимальный уровень поглощения встречается только тогда, когда происходит активация фенолоксидазной распознающей системы, вступающей в реакцию на определенные микробные продукты.

Процесс фагоцитоза у беспозвоночных так же, как и у позвоночных животных, включает следующие стадии: хемотаксис, прикрепление захватываемых частиц к мембране фагоцитов, поглощение прикрепившихся частиц клеткой и, наконец, разрушение фагоцитированного материала, его киллинг. Большинство или все эти стадии процесса фагоцитоза изучены у представителей олигохет, моллюсков, насекомых, ракообразных.

Хемотаксис. Хемотаксис как процесс привлечения клеток к области накопления хемотаксических веществ (хемоаттрактантов) – самая начальная фаза в реакции организма на чужеродные агенты, с которой начинается каскад событий, приводящий к фагоцитозу. Имеется достаточное количество демонстративных работ, выполненных с кольчатыми червями, моллюсками, насекомыми, которые показывают, что хемотаксис включен в осуществление реакции контактного взаимодействия лейкоцитов с инородными телами. Так, у дождевого червя (Lumbricus terrestris) в опытах in vitro лейкоциты отвечают прямой миграцией к месту локализации чужеродных тканей или бактерий. Хемоаттрактантом в стенке тела другого вида олигохет Eisenia foetida является термолабильный белок с молекулярной массой менее 10 кДа. В типе моллюсков хемотаксис гемоцитов устрицы Crassostrea virginica продемонстрирован по отношению к цистам метацеркарий и убитым церкариям нескольких видов морских трематод, а также по отношению к живым грамположительным и грамотрицательным бактериям. Установлено, что в качестве хемотаксического соединения для гемоцитов мидии Mytilus edulis выступают липополисахариды различных бактерий. При этом отдельные составляющие данного соединения (полисахариды, липиды) лишены свойств аттрактантов.

У насекомых, так же как и у других членистоногих, изучение хемотаксиса осложнено быстрым развитием коагуляции с включением в коагулирующую плазму клеток, что не позволяет полноценно оценить процесс миграции в зону проникновения патогена. Тем не менее в опытах in vitro удалось показать движение плазматоцитов (фагоцитирующих амебоцитов) по направлению к агрегатам бактерий с гранулоцитами.

В целом следует констатировать, что процесс миграции гемо-, целомоцитов к месту проникновения патогена есть наиболее общее явление, предшествующее фагоцитозу инородных микроорганизмов.

Адгезия. Случайно или в результате хемотаксиса происходит встреча чужеродных агентов, проникших в организм, с гемоцитами, которые вступают в контактные отношения с этими агентами. Прикрепление микробов или иных частиц к клетке осуществляется за счет рецепторов клеточной поверхности. Другой путь – это взаимодействие чужеродного агента с гуморальными факторами, такими, например, как агглютинины. Последние, в свою очередь, имеют рецепторы на поверхности соответствующих клеток. Способность очищенных агглютининов выступать в качестве распознающих структур продемонстрировано при работе с улиткой Helix pomatia, мидией Mytilis edulis, дальновосточной устрицей Crassostrea gigas.

У морского ежа Stronglyocentrotus droebachiensis и у различных ракообразных в качестве опсонизирующих факторов, способствующих взаимодействию корпускулярного антигена с гемоцитами, могут выступать не только агглютинины, но и комплементподобные белки, а также молекулы, связанные с фенилоксидазной системой. В то же время у морского ежа эхиноидные фагоцитирующие клетки

способны к опсониннезависимому захвату большого набора корпускулярных частиц (эритроцитов, угля, латекса, сефадекса).

Высказывается также предположение, что процесс прикрепления чужеродных частиц к фагоцитам зависит от заряда этих частиц. Так, показана способность фагоцитов бабочки Heliothis virescens взаимодействовать только с отрицательно заряженными липосомами. Нейтрально или положительно заряженные фосфолипиды не поглощались фагоцитирующими клетками.

Процесс поглощения. После прикрепления микроорганизмы поглощаются клетками гемолимфы различными способами. Наиболее часто встречается поглощение с помощью псевдоподий. Микроорганизмы, вступившие в контактные отношения с клеткой, провоцируют формирование плазматических выростов. Они окружают микроорганизм, образуя фагоцитарную вакуоль, которая затем погружается в цитоплазму. Другой способ — это включение микроорганизма в тело клетки без образования псевдоподий, за счет простой инвагинации мембраны. Подобный способ описан при анализе реакции гемоцитов листоеда Ceratoma trifurcata в процессе захвата вируса табачной мозаики и гранулоцитов Crassostrea virginica, поглощающих бактерии. У C. virginica описан еще один способ включения микроорганизмов. Прикрепившиеся к мембране бактерии «скользят» вдоль филоподий до их основания и затем включаются в цитоплазму посредством эндоцитоза.

Фагосомы вскоре взаимодействуют с лизосомальной системой, что приводит к образованию фаголизосом и активации гидролитических ферментов (кислой фосфотазы, неспецифической эстеразы, пероксидазы). Некоторые из этих ферментов секретируются в гемолимфу и выступают в качестве защитных белков, что хорошо показано для различных видов моллюсков.

Внутриклеточное переваривание. Конечная стадия фагоцитоза включает убийство (киллинг) и переваривание захваченных микроорганизмов и связана с активацией лизосомальных ферментов. Принципиальным является тот факт, что процессы ферментативного разрушения микроорганизмов возникли в филогенезе очень давно. Так, обнаружено, что лизосомоподобные гранулы протозоа Entamoeba histolytica содержат семейство α-спиральных пептидов, включающих 77 аминокислотных остатков. Эти полипептиды, названные амебопорами, проявляют антибактериальную и цитолитическую активность, образуя поры в мембранах захваченных микроорганизмов. Специфический интерес состоит в том, что амебопоры структурно и функционально подобны полипептидам, секретируемым цитотоксическими лимфоцитами млекопитающих, — перфоринам и фрагментинам. Кроме того, гранулоциты амеб содержат бактериолитические белки с лизоцимподобными свойствами.

Из всех беспозвоночных информация о биохимических событиях, приводящих к внутриклеточному разрушению микроорганизмов, касается, главным образом, моллюсков и членистоногих.

Установлено, например, что гемоциты таракана Blaberus cranifer убивают различные виды бактерий за один час. За этот же период времени гемоциты австралийского рака Cheraxdestructor sp. разрушают до 90% Salmonella abortus.

У членистоногих в процесс внутриклеточного разрушения включаются миелопероксидаза-H_2O_2, профенилоксидаза, лизоцим и хитиназа, которые, попадая в кровь, обеспечивают работу дополнительных клеточных механизмов защиты. В присутствии соответствующего субстрата (такого, например, как тирозин) про-

дуцируемая фенилоксидаза принимает участие в образовании меланина – пигмента, часто накапливающегося в зоне инкапсуляции паразита. Многие исследователи убеждены, что меланин или его предшественники, такие как хиноны, обладают антипаразитарными свойствами. Они подавляют размножение грибов, угнетают активность хитиназы и протеазы микроорганизмов и проявляют цитотоксическую активность. Предполагается, что проникший в гемоцель патоген активирует фенилоксидазную систему, белки которой выступают не толко как опсонизирующие факторы, но и как активаторы продукции хинонов и меланина. Эти соединения, в свою очередь, выступают в качестве ингибиторов или токсикогенов для микроорганизмов.

Ультраструктурные и биохимические исследования с несколькими видами моллюсков продемонстрировали процесс реутилизации продуктов внутриклеточного разрушения микроорганизмов. Поглощенные бактерии перевариваются кислыми гидролазами клетки. Накапливающиеся моносахариды, жирные кислоты (продукты разрушения бактерий) диффундируют через фагосомальные мембраны в цитоплазму, где происходит синтез глюкозы с образованием гликогеновых гранул. Примером подобных событий могут служить опыты с американской устрицей, зараженной Bacillus megaterium, меченной ^{14}C. Впервые метка обнаруживается в экстрактах гликогена, выделенного из гемоцитов и тканей тела устрицы.

Хорошо известно, что фагоцитоз у позвоночных животных сопровождается потреблением кислорода, накоплением пероксидазы и активацией глюкозо-фосфатного шунта. Значительная активность пероксидазы выявлена у трех видов пресноводной улитки и одного вида наземной улитки при поглощении гемоцитами этих видов корпускулярных частиц. Показано увеличение выхода H_2O_2 из фагоцитирующих амебоцитов морского гребешка Patinopecten yessoensis и у двустворчатого моллюска Mytilis edulis.

Активность пероксидазы зарегистрирована также в целомоцитах полихет, олигохет, сипункулид, речного рака, морского огурца.

Таким образом, процесс фагоцитоза у беспозвоночных в целом идентичен этому процессу у позвоночных и включает такие стадии, как хемотаксис фагоцитирующих клеток к месту проникновения чужеродного материала, адгезию этого материала на клеточной поверхности, активный его захват и, наконец, внутриклеточное разрушение патогена в фаголизосомах с помощью гидролитических ферментов.

6.1. 3. Образование узелков

Одна из форм защиты беспозвоночных при массовом проникновении микроорганизмов представляет собой образование узелков, т.е. концентрацию вокруг паразитов фагоцитирующих и нефагоцитирующих клеток. В результате патогены оказываются как бы пойманными в ловушку. Образование узелков – не изолированный процесс и осуществляется одновременно с фагоцитозом, продукцией меланина и иными защитными реакциями, совместное действие которых обеспечивает очищение организма от микробной инвазии.

Узелки (или по иной терминологии – клеточные агрегаты, клеточные пробки, коричневые тела, гранулемы) описаны у кольчатых червей, моллюсков, насекомых, ракообразных, иглокожих.

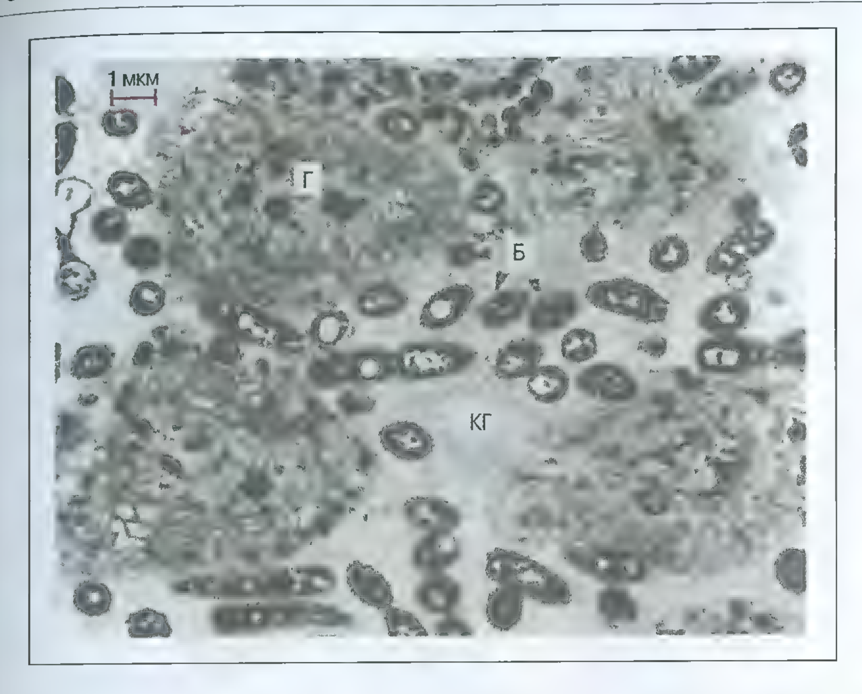


Рис. 6.1. Начальные стадии образования узелка у восковой моли Galleria mellanella в ответ на инъекцию Bacillus cereus

Агрегация бактерий (Б) с гранулоцитами через 1 мин после инъекции. Отмечается большое количество коагулировавшей гемолимфы (КГ), образовавшейся в результате выхода гранул (Г) из разрушившихся клеток. Бактерии оказываются локализованными в месте их встречи с гранулоцитами

Образование узелков происходит в ответ на естественные инфекции, а также в результате инъекции тест-субстанций: китайской туши, кармина, скипидара, микроорганизмов, таких, как протозоа, бактерии, грибки, ооциты.

При изучении процесса образования узелков выяснялись как клеточный состав, формирующий узелок, так и специфика и судьба изолированных микроорганизмов. Достаточно подробно это явление изучено у большой восковой моли Galleria mellonella (рис. 6.1 и 6.2). Для данного вида описана двухстадийность процесса в ответ на введение Bacillus cereus. Первая стадия включает возникновение случайного контакта между гранулярными клетками (цистоцитами) и возбудителем. В результате подобного взаимодействия происходит дегрануляция клеток. В месте разрушения клеток образуется клейкая масса, которая захватывает большое количество бактерий, оказавшихся в зоне повреждения клеток. На первом этапе в разворачивающихся событиях фагоциты не играют доминирующей роли. При этом в результате дегенерации гемоцитов под влиянием прикрепившихся и захваченных бактерий наблюдается накопление меланина, обладающего ингибирующими и токсикогенными свойствами. Приблизительно через два часа от момента заражения моли наступает вторая стадия, при которой фагоцитирующие амебоциты (плазматоциты) увеличиваются количественно и начинают атаковать образовавшийся меланизированный сгусток, включающий разрушенные гемоциты, коагулировавшую гемолимфу и захваченные бактерии. В этой зоне фагоцити-

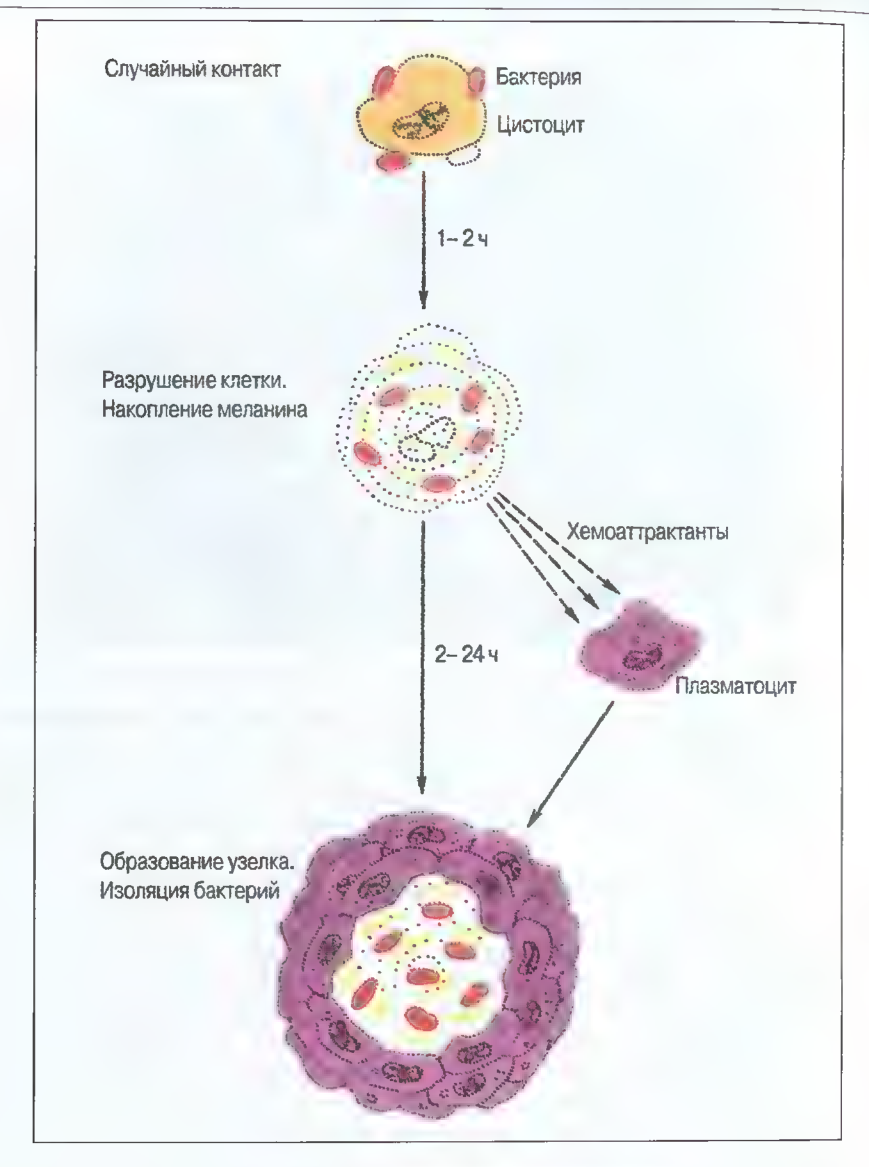


Рис. 6.2. **Схема образования узелка у восковой моли Galleria mellanella**
Объяснение см. в тексте

рующие амебоциты распластываются и через 24 ч образуют характерную многослойную сферу-капсулу. В это же время многие фагоциты содержат бактерии. Аналогичные события происходят при формировании узелка (коричневого тела) у полихеты Arenicola marina (рис. 6.3). Общая картина локализации и захвата бактерий напоминает процесс инкапсуляции вокруг многоклеточных паразитов. Факт определенной задержки при образовании клеточного футляра из амебоцитов вокруг меланизированного участка заставляет думать, что источником хемотаксических



Рис. 6.3. Образование узелка у полихеты Arenicola marina

В зоне скопления целомоцитов, фагоцитировавших бактерии и частично разрушившихся, образуется так называемое коричневое тело (КТ). Большими стрелками отмечено привлечение в зону формирования узелка дополнительных клеток

факторов для фагоцитирующих амебоцитов служат те разрушенные гранулоциты, которые первыми вступили в контакт с бактериями. Действительно, имеются наблюдения in vitro, которые демонстрируют миграцию амебоцитов Galleria по направлению к агрегатам гранулярных клеток с бактериями. Другая предполагаемая возможность включения амебоцитов в процесс образования узелков состоит в селективной задержке свободно мигрирующих клеток гемолимфы. Амебоциты и другие клетки, мигрируя с током гемолимфы, вступают в случайное соприкосновение с ранними узелками. При этом только амебоциты контактируют с предсуществующими в зарождающихся узелках гранулоцитами, благодаря наличию специфических рецепторов к поверхностным структурам гранулоцитов. В качестве таких рецепторов могут выступать углеводспецифические агглютинины (лектины), представленные как на поверхности гемоцитов, так и в плазме. В частности, изучена роль галактозоспецифического агглютинина таракана Periplaneta americana в образовании узелков вокруг частиц сефарозы. Установлено, что предварительная инкубация частиц сефарозы с белками, содержащими галактозу, приводит к более выраженному образованию узелков. При инкубации частиц сефарозы с белками, имеющими в качестве боковых радикалов сиаловые кислоты, реакция клеточной агрегации выглядит слабее по сравнению с основной опытной группой.

Способ уничтожения патогенов в узелках неизвестен. Предполагается, что в этот процесс включаются меланин и его токсические предшественники, а также лизоцим и другие гидролитические соединения. Имеются данные о прямой корреляции между интенсивностью меланизации и числом разрушенных бактерий. Еще до привлечения фагоцитирующих амебоцитов в зарождающийся узелок происходит активация профенилоксидазной системы и распознающих молекул, которые провоцируют продукцию хинонов и меланина, являющихся токсичными для микроорганизмов. Цитохимические исследования показали присутствие в гранулярных клетках узелков Galleria не только фенилоксидазы, но также фосфотазы, β-глюкоронидазы и β-глюкозаминидазы. Два последних фермента являются бактериолитическими, как и лизоцим.

У краба Carcinus maenas бактерии быстро удаляются из циркуляции и локализуются в узелках, образованных гемоцитами. Большинство из этих узелков локализуется в жабрах и синусах между гепатопанкреатическими трубочками. Способ образования узелков у Carcinus сходен с этим процессом у Galleria. Бактерии адгезируют на внешней мембране гемоцитов, которые затем формируют клеточные сгустки. Агрегировавшие гемоциты выделяют вещества, которые обеспечивают коагуляцию гемолимфы в зоне клеточного скопления. Разрушающиеся в агрегатах клетки служат источником хемотаксических веществ, привлекающих дополнительное количество гемоцитов, которые и образуют концентрические уплотненные слои вокруг центрального меланизированного тела, где собственно и происходит некроз микробов.

Детально изучена судьба бактерий в организме полихеты Arenicola marina и продемонстрирована важная роль агрегации в процессе освобождения организма от бактерий. У этого животного сформировавшиеся узелки с фагоцитированными бактериями часто принимают вид «коричневых тел». Они представляют собой скопление целомоцитов и плохо переваренного, фагоцитированного материала, который в дальнейшем все-таки уничтожается.

У иглокожих процесс образования узелков сходен с тем, который описан для членистоногих, и включает в работу фенилоксидазо-меланиновую систему. В то же время у моллюсков образование узелков не сопровождается пигментацией.

6.1. 4. Инкапсуляция

Помимо тромбирования ран, фагоцитоза и образования узелков, у беспозвоночных описана еще одна форма неспецифической защиты, известная и для позвоночных животных, – инкапсуляция. В тех случаях, когда организм беспозвоночных встречается с такими многоклеточными паразитами, как цестоды, трематоды, грибки или с крупными протозоа, которые являются настолько большими, что не могут быть захвачены одной клеткой гемолимфы, происходит формирование многослойного клеточного футляра из лейкоцитов вокруг инородного материала (рис. 6.4).

Сформировавшаяся клеточная капсула в функциональном и морфологическом отношениях аналогична клеточному узелку. Отличие капсулы от узелка касается только размера в связи с величиной изолируемого объекта. Инкапсуляция описана у членистоногих, моллюсков, оболочников, кольчатых червей, кишечнополостных и даже у губок.



Рис. 6.4. Микрофотография начальной стадии инкапсуляции у восковой моли Galleria mellanella, полученная с помощью электронного микроскопа

Отмечается приток гранулярных клеток, облегающих кусочек нервного тяжа (НТ) саранчи. Продукт разрушения клеток содержит гранулы (Г) и свободные ядра (Я), являющиеся составной частью коагулянта. Препарат получен через 5 мин после имплантации

У животных с отсутствием циркуляции (губки, кишечнополостные) инкапсуляцию осуществляют блуждающие клетки – фагоцитирующие амебоциты (археоциты), колленциты. Основными же клетками, включенными в процесс инкапсуляции, у беспозвоночных с циркулирующей системой являются лейкоциты гемолимфы. Более того, известно участие в инкапсуляции фиксированных клеток, таких как соединительнотканные клетки у головоногих моллюсков и эпителиальные клетки у оболочников.

Наиболее необычная реакция инкапсуляции наблюдается у некоторых двукрылых, которые в ответ на проникновение чужеродного материала образуют неклеточную, пигментированную капсулу, которая построена, вероятно, из веществ, включающих меланин. Следует, однако, заметить, что чисто гуморальное происхождение капсулы вызывает сомнение. Не исключено, что в ней присутствует все-таки незначительное количество клеток. Тип капсулы может зависеть от числа циркулирующих клеток. Так, при изучении 12 видов двукрылых удалось установить следующие соотношения. В случае, когда количество гемоцитов в 1 мм^3 крови ниже 4 тыс., происходит формирование гуморальной капсулы. Если же количество клеток выше 6 тыс./мм^3, регистрируется клеточная капсула.

Как и любой другой иммунологический ответ, процесс инкапсуляции варьирует в зависимости от видовых особенностей как паразита, так и хозяина, а также от влияния внешних факторов. Пол, возраст, характер питания хозяина, видовая принадлежность паразита и его количество, температура окружающей среды изменяют такие показатели инкапсуляции, как число клеточных слоев, плотность упаковки клеток в капсуле, интенсивность меланизации.

Существует некоторая неопределенность относительно типа клеток, включенных в процесс капсулообразования. Так, у насекомых в инкапсуляции принимают участие гранулярные клетки, плазматоциты (амебоциты), тромбоциты, ламеллоциты, оеноциты. У моллюсков ситуация менее сложная. Основными клетками, образующими капсулу, являются гранулоциты, хотя включаются и гиалиновые клетки и клетки соединительной ткани. Предполагается, что клетки, по морфологии напоминающие клетки соединительной ткани, могут быть трансформированными гемоцитами. Необходимо учитывать относительность классификации клеток в капсуле, так как возможны неточности в силу разных подходов в самой классификации, терминологии (разное название для одного и того же типа клеток), морфологической стабильности клеток в капсуле у разных видов, а также к возрасту самой капсулы.

Работа по изучению механизмов инкапсуляции включает анализ действующих сил, обеспечивающих распознавание патогена гемоцитами, роль хемотаксических факторов, участие агглютининов в образовании капсулы.

Мало что известно о самом начальном этапе процесса, когда чужеродный материал проникает в организм и происходит его контакт с гемоцитами. При работе со спорами грибов Beaveria bassina и гемоцитами рака Astacus astacus показано, что споры, обработанные in vitro лизатом гемоцитов и введенные после обработки в организм животного, провоцируют более сильную реакцию инкапсуляции по сравнению со спорами, проинкубированными с плазмой или буферным раствором. Известно также, что гемоциты Crassostrea в опытах in vitro начинают движение по направлению к церкариям (хвостатым личинкам трематод) после их внесения в культуру. Значение гуморальных факторов в обеспечении направленного движения гемоцитов к чужеродному агенту подчеркивает целая серия исследований. Природа хемотаксических факторов неизвестна, хотя они могут быть сходны с теми гуморальными веществами, которые действуют в фагоцитозе.

В опытах с гемоцитами Biomphalaria glabrata, предварительно сенсибилизированных спороцитами Schistosoma mansoni, показано, что гемоциты резистентных улиток разрушают паразитические споры более активно по сравнению с интактными клетками. Предполагается, что эта более активная реакция взаимодействия между сенсибилизированными клетками и паразитом связана с наличием на гемоцитах цитофильных агглютининов.

Среди молекул, принимающих участие в клеточной адгезии при инкапсуляции или образования узелков, отмечают такие, как гемолин, молекулы семейства интегринов (гомологов подобных молекул млекопитающих), пероксинектин и др.

Ряд авторов обращает внимание на значение физико-химических свойств поверхности патогена для провокации реакции инкапсуляции. Так, в опытах in vivo и in vitro установлено, что гемоциты насекомых легко образуют капсулу вокруг положительно заряженных частиц. Движущим фактором в данном случае являются, очевидно, электростатические силы притяжения, так как гемоциты несут суммарный отрицательный заряд. Однако электростатическое притяжение как

причина межклеточного взаимодействия не является всеобщим механизмом распознавания чужеродности. Продемонстрировано, что гемоциты таракана Periplaneta americana в отличие от гемоцитов саранчи Schistocerca gregaria активно образуют капсулу вокруг отрицательно заряженных полистероловых и сефарозных частиц. Таким образом, какого-либо всеобъемлющего заключения по механизму начального этапа инкапсуляции сделать не удается.

Другой механизм, который, возможно, связан с активностью агглютининов или иных белков гемолимфы, состоит в способности опсонизировать микроорганизмы. Примером в данном случае служат опыты, проведенные с гемоцитами рака Astacus astacus и спорами грибов Beauveria bassiana. Обработка отмытых гемоцитов плазмой усиливает процесс инкапсуляции.

Распознавание чужеродного материала гемоцитами беспозвоночных является пусковым механизмом для развития основного процесса — формирования плотной клеточной изоляции патогена или какой-либо иной инородной частицы. На модели развития капсулы у личинки восковой моли Galleria mellonella, которой имплантировали нервный тяж саранчи, вскрыты временные параметры капсулообразования. Как и при образовании узелков, процесс инкапсуляции состоит из двух этапов. Первый этап, в течение которого гемоциты и поверхность чужеродной частицы входят в конфронтационные отношения, начинается через 5 мин после имплантации и характеризуется деградацией и лизисом гранулярных клеток и формированием тромбоподобной реакции. Второй этап начинается через 20 мин после имплантации и включает прикрепление фагоцитирующих амебоцитов (плазматоцитов) к отдельным участкам имплантата, на которых имеется экстракт разрушенных гемоцитов. Приток мигрирующих плазматоцитов, как и при формировании узелков, обеспечивается, очевидно, хемотаксическими факторами, выделяемыми из лизированных гранулоцитов. В результате два типа клеток — гранулоциты и плазматоциты — образуют характерную многослойную капсулу. Предполагается также, что среди хемотаксических факторов, привлекающих фагоцитирующие плазматоциты, имеются лимфокиноподобные молекулы — аналоги клеточных медиаторов млекопитающих. Подобная же картина наблюдается при изучении капсулообразования у морского многощетинкового червя Nereis diversicolor. Среди прочих клеток гемолимфы червя в инкапсуляции принимают участие три типа гранулоцитов: тип I — клетки удлиненной формы, около 6—7 мкм в диаметре, с характерной вуалью (этот клеточный тип составляет приблизительно 20% от всех гранулоцитов); тип II — гранулоциты с хорошо выраженными псевдоподиями представлены в наибольшем количестве (54%); тип III — наиболее мелкие, округлые клетки (3—4 мкм в диаметре) с длинными филоподиями и высоким ядерно-цитоплазматическим отношением, частота встречаемости среди гранулоцитов — около 24%. При использовании моноклональных антител к каждому из трех типов выявлена динамика образования капсулы вокруг плотного инородного тела. В первые минуты после имплантации вокруг чужеродного тела скапливаются гранулоциты типа III. Затем мигрирующие в зону имплантата гранулоциты типа II образуют многослойный чехол вокруг твердого тела. Процесс сопровождается активной дегрануляцией клеток. На третьем этапе в процесс включаются гранулоциты типа I, которые образуют клеточную сеть, обеспечивающую окончательное формирование капсулы. Параллельно с процессом дегрануляции наблюдается активация пролиферации клеток в зоне формирования капсулы.

Сформировавшаяся капсула препятствует распространению паразитов в организме хозяина и является в конечном счете местом их гибели. О конкретных механизмах уничтожения паразитов внутри капсулы нет единого мнения. Предполагается, например, включение в процесс киллинга активного компонента профенилоксидазной системы, поскольку образование капсулы, как и в случаях формирования узелков, сопровождается отложением меланина.

Для моллюсков представлена количественная характеристика разрушения спороцитов и мироцидий Schistosoma mansoni клетками резистентной улитки Biomphalaria glabrata. После контакта паразитов с гранулоцитами последние начинают разрушать оболочку спор. Через 24 ч в результате нарушения целостности оболочки находящиеся под ее покровом структуры подвергаются фагоцитозу. В это же время наблюдаются два параллельных процесса – образование капсулы и включение в реакцию защиты гуморальных факторов из разрушенных гемоцитов и притекающей лимфы: лизоцима, алкалина, кислой фосфатазы, β-глюкуронидазы, амилазы, липазы. Именно эти ферменты вносят свой вклад в гибель паразитов.

Помимо отмеченных ферментов в уничтожении патогенов принимают участие такие вещества, как ванадий клеток крови асцидий, эхинохром красных сферических клеток иглокожих, антимикробные продукты губок.

6.1.5. Цитотоксические реакции НК-клеток

Естественная клеточная цитотоксичность как неспецифическая форма защиты от трансформированных собственных или трансплантированных чужеродных клеток хорошо известна у млекопитающих. Клетками-эффекторами, разрушающими мишени, являются естественные киллеры, активированные макрофаги, функциональная активность которых находится под регуляторным влиянием многих факторов как эндогенной, так и экзогенной природы.

Естественная цитотоксичность, реализуемая, главным образом, лейкоцитами целома или гемолимфы, обнаружена и у беспозвоночных. Она описана у губок и кишечнополостных, сипункулид и кольчатых червей, моллюсков, членистоногих, оболочников.

Биологический смысл естественной цитотоксичности имеет по крайней мере два значения. Первое связано с характером жизни колониальных форм, таких как губки, кишечнополостные, оболочники. Отдельные колонии этих таксонов образуют плотные скопления, при которых неизбежно соприкосновение между разными колониями одного и того же вида. Цитотоксическая реактивность в данном случае как раз и направлена на сохранение индивидуальной самостоятельности колоний. Иначе, при соприкосновении отдельных частей тела двух соседних колоний развивается цитотоксическая реакция, препятствующая слиянию колоний. У неколониальных беспозвоночных целомо- или гемоциты выполняют, очевидно, функцию уничтожения трансформированных по тем или иным причинам клеток собственного организма, сохраняя тем самым генетически обусловленную клеточную целостность индивидуума. Эта эндогенная активность характеризует собой второе биологическое предназначение цитотоксических лейкоцитов.

Экспериментальным подтверждением наличия естественных киллеров у беспозвоночных являются, в частности, опыты, выполненные с лейкоцитами и

эритроцитами сипункулид, хорошо отличающимися друг от друга морфологически. Когда лейкоциты Sipunculus nudus смешивали с ксеногенными эритроцитами Siphonosoma arcassonense, наблюдали лизис около 40% эритроцитов-мишеней через 4–6 ч. Другой пример – цитотоксичность гемоцитов асцидии Ciona intestinalis. Клетки гемолимфы этого вида оболочников способны лизировать in vitro эритроциты кролика, морской свинки, барана, человека. Лизис клеток-мишеней осуществляется при прямом контакте с эффекторными клетками, в широком диапазоне pH среды и сопровождается накоплением агглютининов к эритроцитам.

Функциональная идентичность между целомоцитами беспозвоночных и НК-клетками млекопитающих, их филогенетическая преемственность подтверждаются прямым наблюдением. При работе с целомоцитами пурпурного морского ежа Arbacia punctulata была установлена их естественная цитотоксичность по отношению к клеткам человека и мыши, проявление этой реакции при прямом контакте с клетками-мишенями и, что самое главное, наличие рецепторов, свойственных НК-клеткам млекопитающих: CD56 (NKH-1) и CD158b (KIR), относящихся к суперсемейству иммуноглобулинов. При этом установлено отсутствие главных рецепторов субпопуляций Т-клеток: CD4, CD8, CD3.

6.1.6. Активация лейкоцитов

Процесс активации лейкоцитов беспозвоночных следует рассматривать в двух аспектах: в плане специфической и неспецифической стимуляции. Ясно, что явление специфической стимуляции должно характеризоваться двумя показателями: наличием структур клеточной поверхности, способных специфически распознавать чужеродный антиген (у позвоночных животных такими структурами являются поверхностные иммуноглобулины В-клеток и антигенраспознающие рецепторы Т-клеток), и более выраженным вторичным ответом на антиген, использованный для первичной сенсибилизации лейкоцитов, т.е. проявлением иммунологической памяти.

У беспозвоночных в этом отношении имеется некоторая неопределенность. С одной стороны, продемонстрировано слабое ускорение специфической реакции лейкоцитов на сенсибилизирующий антиген, с другой – не обнаружены специфические структуры, способные быть молекулярным механизмом специфического распознавания и иммунологической памяти.

Известно усиление реактивности клеток крови улитки Biomphalaria glabrata как следствие предварительной сенсибилизации организма мирацидиями Echinostoma lindoense. Примирование (от англ. primer) приводит к более выраженному проявлению инкапсуляции при повторном введении патогена. Регистрируется вполне определенная специфичность вторичного ответа, так как сенсибилизированные улитки остаются вполне восприимчивы к другим патогенам. Несмотря на определенную специфичность в анализируемой паре хозяин–паразит, считается, что подобные отношения не имеют иммунологической специфичности в строгом понимании этого явления, а представляют собой лишь усиление активности фагоцитирующих клеток и напоминают реакцию активации макрофагов позвоночных животных.

Эксперименты по имплантации у L. stagnalis также выявили увеличение числа циркулируюших амебоцитов в 2—3 раза по сравнению с контролем. Однако не установлено различий в числе клеток и интенсивности инкапсуляции при введении различных комбинаций ксеногенной или аллогенной ткани.

Пример стимуляции клеток крови дает речной рак Cherax destructor. Иммунизация эндотоксином или убитой вакциной приводит к увеличению числа гемоцитов в циркуляции. Эти клетки демонстрируют более активный фагоцитоз и деградацию опсонизированных эритроцитов по сравнению с гемоцитами от интактных животных. Кроме того, показана корреляция между резистентностью животных к инфекции и активностью гемоцитов. Активация гемоцитов эндотоксином, вероятнее всего, реализуется через стимуляцию профенилоксидазной системы.

В целом следует отметить, что специфическая клеточная стимуляция к патогенам у беспозвоночных, по-видимому, отсутствует. Однако это утверждение не затрагивает тех реакций лимфоцитоподобных клеток, которые связаны с трансплантационным отторжением.

Приведенные факты о различных формах клеточного реагирования на микробную инвазию у беспозвоночных позволяют говорить о наличии у данной группы животных достаточно развитой противоинфекционной системы защиты.

Суммарные данные, представленные в табл. 6.1, указывают на удивительное единообразие форм реагирования на патоген от наиболее просто организованных беспозвоночных (губок, кишечнополостных) до сравнительно совершенных представителей этих животных. Фагоцитоз, образование узелков, инкапсуляция, реакция естественной цитотоксичности и активация гемо- и целомоцитов встречаются у всех изученных типов беспозвоночных.

Первая встреча патогена с клеткой приводит к высвобождению хемотаксических веществ (хемоаттрактантов), привлекающих в зону проникновения микроорганизмов фагоцитирующие клетки. Последние вступают в реакцию взаимодействия с патогеном посредством структур клеточной поверхности. Иной путь первой встречи с чужеродным материалом состоит в предварительной опсонизации микроорганизмов. В качестве опсонинов выступают белки, получившие название агглютининов (лектинов), которые способны вступать в реакцию взаимодействия с углеводами микробной стенки. Эти же гуморальные вещества, ассоциированные с мембраной фагоцитов, служат рецепторами для микробных тел. Вслед за адгезией наступает реакция поглощения и внутриклеточного переваривания микроорганизмов. В целом заключительные реакции фагоцитоза клетками беспозвоночных неотличимы от тех, которыми характеризуются позвоночные животные. Микроорганизмы, вступившие в контактные отношения с клетками, провоцируют формирование плазматических выростов, которые окружают инородные частицы и заключают их затем в цитоплазму.

Фагоцитоз – не изолированное явление и входит составной частью в более сложную комплексную реакцию организма на патоген, проявляющуюся в виде образования узелков или капсулы вокруг проникшего чужеродного материала. В основе двух этих форм неспецифической защиты лежит процесс локальной концентрации фагоцитирующих и не фагоцитирующих клеток пораженного организма. Принципиальных различий между данными формами реактивности нет. Локально проникшие бактерии провоцируют образование узелков. В тех случаях, когда организм встречается с такими многоклеточными паразитами, как цисто-

ды, нематоды, грибки или крупные протозоа, которые настолько велики, что не могут быть усвоены отдельными клетками, происходит формирование многослойного, клеточного футляра – капсулы. Патогены оказываются изолированными от организма клеточным барьером, что и определяет их судьбу.

6.2. Гуморальный иммунитет

6.2.1. Лизины

Гемолизины. В экспериментальных моделях основным объектом изучения литической активности гуморальных факторов беспозвоночных являются гетерологичные эритроциты. Отсюда и название факторов, обеспечивающих их разрушение, – гемолизины. Гемолизины встречаются у сипункулид, кольчатых червей, моллюсков, ракообразных, иглокожих, оболочников. Гемолизины беспозвоночных в основном термолабильны, чувствительны к протеолитическим ферментам, хелатным соединениям, требуют для оптимального действия дивалентных катионов.

Относительно полно изучены гемолизины дождевого червя E. foetida. Активность гемолизинов этого вида червей подавляется при 56 °С в течение 15 мин. По данным изоэлектрофокусирования, гемолитические факторы представляют собой полиморфную систему, включающую шесть различных компонентов. Эти факторы подавляют жизнедеятельность ряда бактерий, выделенных из перегноя – среды обитания червей. Бактерии подвергаются также подавлению роста в целомической полости животных. Среди литических белков этих червей выделены и частично охарактеризованы три самостоятельные молекулы: белки с молекулярной массой 45, 40 и 25 кДа соответственно. Все они содержат гликолипидный компонент. По реакции задержки установлено, что белки взаимодействуют с корпускулярным антигеном через N-ацетил-D-глюкозамин и α–метил-D-маннопираноид.

Все три белка обладают сильным бактериостатическим действием по отношению как к грамположительным, так и грамотрицательным бактериям. Кроме того, белок с молекулярной массой 40 кДа (β-BC) характеризуется сильной литической активностью по отношению к свежим эритроцитам и агглютинирующей активностью по отношению к эритроцитам, обработанным глютаральдегидом. Белок с молекулярной массой 45 кДа (γ-BC) также сильно лизирует эритроциты барана, но слабо их агглютинирует. Белок с молекулярной массой 20–25 кД (ε-BC) плохо и лизирует и агглютинирует эритроциты.

Интересные данные по выяснению генетической детерминации одного из гемолизинов E. foetida, имеющего молекулярную массу 40 кДа. На большом количестве животных (около 2 000 экз.) с использованием изоэлектрофокусирования было показано, что данный белок представлен четырьмя молекулярными изоформами (по количеству выявляемых полос). Индивидуальное животное обладает двумя или тремя из этих форм. Сопоставление электрофореграмм всех проанализированных особей позволило сделать заключение о том, что полиморфизм изученного гемолизина контролируется двумя независимыми генами. Один из них представлен единственной аллельной формой и является общим для всех особей вида. Другой ген имеет три аллельные формы: a, b, c. При изучении E. foetida, обитающих в Калифорнии, была выявлена четвертая, дополнительная аллель d, дос-

7. Заказ № 67.

таточно прочно укоренившаяся в калифорнийской популяции и встречающаяся с частотой около 32%.

У Holoturia polii (тип иглокожих) выделено два основных литических белка — He1 и He2 – с молекулярной массой 76 и 80 кДа соответственно, а также два дополнительных гемолизина с молекулярной массой 27 и 31 кДа. При использовании электронной микрофотографии было визуализировано прямое литическое действие этих белков. Гемолизины голотурии образуют в мембране эритроцитов крупные отверстия неправильной формы величиной от 50 до 200 мкм, отличающиеся морфологически от подобных отверстий, образуемых под влиянием комплемента.

Количество этих гемолизинов увеличивается при введении в организм чужеродных антигенов или при повреждении покровных тканей. Однако продолжительность повышенной реакции ограничена во времени и несет неспецифический характер.

Лизины к микроорганизмам. Одним из хорошо известных литических факторов является лизоцим — фермент, расщепляющий связь 1—4 между N-ацетилмурановой кислотой и N-ацетилглюкозамином, представленных в клеточной стенке некоторых бактерий.

Многими исследователями продемонстрировано наличие лизоцимподобной активности у целого ряда беспозвоночных, включая кольчатых червей, моллюсков, насекомых, иглокожих.

При работе с двустворчатым моллюском M. mercenaria показано, что источником лизоцима в гемолимфе являются гемоциты. Эти факты получены в результате изучения фагоцитоза Bacillus megaterium. Параллельно захвату бактерий гемоцитами наблюдается значительный выброс лизоцима из клеток. Инъекция липополисахарида стимулирует повышение уровня лизоцима в клетках крови. Используя цитохимические подходы при изучении гранулярных клеток у саранчи, было обнаружено присутствие лизоцима во внутриклеточных гранулах. Его выброс в экстраклеточную среду, очевидно, связан с процессом коагуляции. Свободный от клеток лизоцим накапливается в гемолимфе. Лизоцим беспозвоночных, впрочем как и лизоцим позвоночных животных, неспецифичен по отношению к микроорганизмам, вызвавшим его накопление в гемолимфе.

У большой восковой моли G. mellonella выявлена корреляция между увеличением бактерицидной активности, зависящей от уровня лизоцима, и усилением протективного иммунитета, пик которого наблюдается через 20 ч после введения вакцинного штамма Pseudomonas aeruginosa. При этом повышенный уровень лизоцима сохраняется до 72 ч. Отмечается также, что лизоцим данного вида не является единственным фактором, включенным в антибактериальную защиту.

У бражника Manduca sexta удалось индуцировать антибактериальный лизоцим инъекцией ксеногенного пептидогликана, выделенного из гемоцитов другого вида бражника M. luteus. Эти факты указывают на достаточность незначительных различий в структуре пептидогликана между донором и реципиентом, чтобы вызвать усиленную продукцию лизоцима.

Специальный интерес представляют исследования, в которых в целомической жидкости дождевых червей помимо лизинов обнаружен самостоятельный фактор (или факторы) полипептидной природы, способный расщеплять белки позвоночных животных (IgG свиньи, сывороточный альбумин человека). Защитное действие этих факторов предстоит еще изучить.

6.2.2. Агглютинины (лектины)

Многие беспозвоночные обладают гуморальными факторами, которые способны агглютинировать инородные корпускулярные частицы: бактерии, протозоа, эритроциты позвоночных, лейкоциты беспозвоночных, лимфоциты, спермантозоиды, многоклеточные паразиты.

Хорошо известно, что агглютинины не являются привилегией беспозвоночных. Они обнаружены и у растений и у позвоночных животных. Это – так называемые лектины. В сыворотке позвоночных животных лектиноподобные соединения выступают в качестве опсонизирующих факторов.

Гемагглютинины. Большинство работ, в которых изучали структуру и функцию агглютининов, выполнено с использованием эритроцитов позвоночных животных в качестве объекта экспериментальных исследований. Отсюда их условное название – гемагглютинины (ГА). Общим свойством агглютинирующих веществ является их способность образовывать нековалентную связь с углеводными компонентами клеточной поверхности. Перечислим характерные особенности ГА беспозвоночных.

1. Наличие некоторой селективности во взаимодействии с эритроцитами различных видов. Примером подобного дифференцированного взаимодействия являются опыты, проведенные с гемолимфой оболочника Styela clava. Гемолимфа этих животных содержит естественные ГА к эритроцитам барана, лошади, осла, собаки, морской свинки, кошки, курицы, теленка, леопардовой лягушки. ГА к эритроцитам барана взаимодействуют с глюкуронлактоном, лошади – с галактозамином, маннозамином и мальтозой, собаки – с мембиозой. ГА к эритроцитам других видов реагируют с гиалуроновой кислотой. У дождевого червя L. terrestris ГА вступают во взаимодействие с эритроцитами кролика, крысы, курицы, человека, но не реагируют с эритроцитами других видов. Ясно, что подобная видовая селективность не имеет отношения к антигензависимой специфичности ГА. Примеров неспецифического взаимодействия ГА много. Например, введение личинкам бабочки Anticarcia gemmatalis патогенных грибков приводит к значительному увеличению титров ГА к эритроцитам человека.

2. Большинство ГА – белки или гликопротеины, что доказывается, в частности, действием на них протеолитических агентов: трипсина, 2-меркаптоэтанола, трихлоруксусной кислоты, бромелаина.

3. Как правило, ГА беспозвоночных требуют дивалентных катионов для проявления своей биологической активности.

4. Сыворотка многих беспозвоночных содержит несколько различных типов ГА, каждый из которых реагирует с эритроцитами разных видов животных. Так, у оболочника Styela clava таких агглютининов по крайней мере четыре. У дождевого червя E. foetida в целомической жидкости обнаружены естественные ГА с молекулярной массой 11, 20, 32 и 40 кДа. У асцидии Botrylloides leachii выделены два ГА: HA-1 и HA-2. HA-1 специфичен к эритроцитам морской свинки. В то же время HA-2 способен агглютинировать широкий видовой набор эритроцитов, включая эритроциты голубя, кролика, мыши, морской свики. Активность данного ГА не зависит от катионов и в отличие от HA-1 может действовать как опсонизирующий фактор.

5. Анализ подавления реакции гемагглютинации с помощью различных углеводов установил, что многие ГА, принадлежащие разным видам, взаимодействуют

с теми же самыми сахарами на поверхности эритроцитов. Наиболее распространенными углеводами являются: N-ацеталгалактозамин, N-ацетилглюкозамин, N-ацетилнейраминовая кислота, галактоза, сиаловая кислота. Специфичность по сиаловым кислотам наиболее распространена среди лектинов членистоногих. Только насекомые выпадают из этого ряда, что связано либо с полифелитическим происхождением данного таксона членистоногих, либо с недостаточной изученностью класса в целом.

6. ГА не являются аналогами, а тем более гомологами, иммуноглобулинов позвоночных животных (суммарные данные см. в табл. 6.3).

Таблица 6.3.

Некоторые свойства лектинов (агглютининов) беспозвоночных

Таксон, вид	Наименование гемагглютинина	Химическая природа	Молекулярная масса, кДа	Требования к двухвалентным катионам	Взаимодействие с химическими соединениями
Губки					
Aaptos papillata	Лектин I	Белок	21, 12 (субъединицы)		NA-Глк
	Лектин II	Белок	16 (субъединица)		NA-Гал
	Лектин III	Белок	16 (субъединица)		NA-Нак
Axinella polipoides	Аксинелла I	Белок	21		d-Гал
	Аксинелла II	Белок	15		d-Гал
Geodia cydonium	Лектин I	Гликопротеин	60 (субъединица – 15)		Лак, NA-Гал
Кольчатые черви					
Lumbricus terrestris		Белок	45, 25 и полиморфный белок – 40		NA-Глк, Мет-Ман
Nereis virens		Высокомолекулярный липид (?)			БМ
		Низкомолекулярный белок			БМ
Моллюски					
Crassostrea gigas	Гигалин М	Белок	15 (субъединица)		NA-Глк, NA-Гал, NA-Нак
	Гигалин Е				
Helix pomatia	Хеликс поматия А	Гликопротеин	72–79	Ca	α-Метил-NA-Гал, NA-Гал, NA-Глк
Mytilis edulis		Белок	480		Муцин
Limax flavus	ЛФА	Белок	44 (2 субъединицы по 22 каждая)		NA-Нак
Tridacna maxima	Тридацин	Гликопротеин	470 (субъединицы по 10, 20 и 40)	Ca	NA-Гал

Таблица 6.3 (продолжение).

Таксон, вид	**Наименование гемагглютинина**	**Химическая природа**	**Молекулярная масса, кДа**	**Требования к двухвалентным катионам**	**Взаимодействие с химическими соединениями**
Меростомовые					
Limulus polyphemus	Лимулин	Гликопротеин	400	Ca	NA-Глк, NA-Нак
Tachypleus tridentatus	TTA-I	Белок	Субъединицы по 40		
	TTA-II	Белок			
	TTA-III	Белок			
	TTA-IV	Белок			
Паукообразные					
Centruroides sculpturatus		Белок (по крайней мере двух видов)		Ca	NA-Нак, N-гликозилнейраминвая кислота
Ракообразные					
Cherax destructor		Белок	81 (субъединиц по 13,5)	Ca	
Homarus americanus	ЛАГ-1	Белок	Субъединиц по 55	+	NA-Нак
	ЛАГ-2	Белок	То же	+	NA-Гал
Насекомые					
Blaberus discoidaluis	BDL1	Гликопротеин	390 (субъединиц по 36)	Ca	Гал, d-Глю, d-Ман, NA-Мам
	BDL2	Гликопротеин	140 (субъединиц по 23)	Ca	Гал, NA-Глк
	BDL3	Гликопротеин		Ca	Гал, NA-Гал
Sarcophaga peregrina		Белок	190 (субъединиц по 32 и 30)		Лак, Гал
Schistocerca gregaria					Сук, фетуин
Teleogryllus commodus		Агрегированный металлопротеин	1 000 (субъединиц по 31 и 53)	+	NA-Глк, NA-Гал
Иглокожие					
Asterias forbesi		Белок	120–150	+	
Anthicidaris crassispina		Белковоподобный	>200	Ca	

Таблица 6.3 (окончание).

Таксон, вид	Наименование гемагглютинина	Химическая природа	Молекулярная масса, кДа	Требования к двухвалентным катионам	Взаимодействие с химическими соединениями
Hemicentrotus pulcherrinus		Сложный углеводород		Ca	
Pseudocentrotus depressus		Белково-подобный	200	Ca	Гал
Holothuria	He-I	Белок	76	Ca	
Polii	He-II	Белок	80	Ca	СМ
Оболочники					
Botryloides leachii	ГА-1	Белково-подобный	200	Ca	Гал, Лак
	ГА-2	Белково-подобный	63	Ca	Лак, NA-Нак
Halocynthia pyriformis		Белково-подобный		Ca	NA-Нак
Halocynthia roretzi		Белково-подобный	Субъединиц по 41	Ca	Гал
Styela plicata		Полисахарид или мукополисахарид			
Ascidia malaca		Белок	58	Ca	Гал

Примечание. Лак – лактоза; Гал – галактоза; Ман – манноза; Сук – сукроза; БМ – бычий муцин; Мет-Ман – α-метил-D-маннопираноид; СМ – сфигомиелин; NA-Глк – N-ацетил-d-глюкозамин; NA-Гал – N-ацетил-d-галактозамин; NA-Нак – N-ацетилнейраминовая кислота; NA-Мам – N-ацетил-d-маннозамин.

Бактериальные агглютинины. Следует заметить, что бактериальные агглютинины (БА) и ГА очень часто представляют собой одни и те же молекулярные соединения. Так, у дождевого червя L. terrestris ГА к эритроцитам кролика, крысы, курицы, человека способны также реагировать с набором различных грамотрицательных и грамположительных бактерий. Другой пример: при изучении агглютинации бактерий и эритроцитов различных видов позвоночных животных гемолимфой, выделенной от шести видов морских моллюсков, принадлежащих разным классам, 64 из 94 бактериальных штаммов (15 родов, 36 видов) и семь типов эритроцитов наблюдали агглютинацию этих клеток гемолимфой изученных беспозвоночных животных.

Стимуляция продукции агглютининов и механизм их действия. В большинстве случаев количество агглютининов не меняется от антигенной стимуляции. Однако для некоторых из них удалось продемонстрировать усиление секреции (табл. 6.4).

Таблица 6.4.

Примеры стимуляции продукции гемагглютининов у беспозвоночных

Вид	Способ иммунизации	Использованные антигены	Срок наблюдения, дни	Тест-эритроциты	Уровень увеличения титров ГА	Время максимального увеличения титров, дни
Lumbricus terrestris	Внутрицеломический	Белки, сахара, эритроциты	2	Кролика, крысы	В 5–7 раз	1
Callinectes sapidas	В клешню	Эритроциты кролика, крысы	8	Кролика	Максимальнов 2 раза	1–2
Crassostrea gigas	Вакцина в окружающей среде	Vibrio anguillarum	9	Лошади, человека	Максимально в 4 раза	1
Extatosoma Triaratum	Внутрицеломический	Фиксированные эритроциты барана	28	Барана	Максимально в 4 раза	7–14
Botryloides reachi	Внутрь туники	Эритроциты барана, кур	6 нед	Барана, кур, морской свинки	В 2–4 раза	2 нед

Так, у гигантского палочника Extatosoma tiaratum из 21 проанализированных особей 10 (или 48%) дали увеличение титра ГА в ответ на введение эритроцитов. Из общего числа положительно ответивших особей восемь имели увеличение титра ГА всего в 2 раза, одна – в 4 раза и одна – более чем в 4 раза. Большинство насекомых, продемонстрировавших стимулирующий эффект, были способны к подобной реакции лишь после повторного введения антигена. Аналогичные результаты получены при анализе индуцируемости ГА у дождевого червя L. terrestris.

При работе с серой мясной мухой Sarcophaga peregrina обнаружено увеличение продукции ГА после простого ранения поверхностных покровов. ГА этих насекомых состоит из двух субъединиц – α и β. У неповрежденной личинки синтезируется только α-субъединица. При повреждении образуется дополнительная β-субъединица, что обусловливает появление активного ГА.

Увеличенная продукция ГА может быть индуцирована не только эритроцитами различных видов животных, но и бактериальными агентами. Такая возможность продемонстрирована у мясной мухи при инъекции Vibrio anquillarum. Имеющийся фоновый уровень ГА у личинок бабочки Anticarsia gemmatalis увеличивается в 8–10 раз при их заражении патогенным грибком Numerea rilevi. Стимулирующий эффект бактериальных и эритроцитарных антигенов реализуется через взаимо-

действие углеводных компонентов этих клеточных антигенов с предсуществующими агглютининами. Например, 2-кето-3-деоксиоктонат и α-глицерофосфат – компоненты клеточной стенки бактерий – способны индуцировать усиление продукции карциноскопина, циркулирующего в гемолимфе краба Carcinoscorpius rotundacauda.

Известно предсуществование лектина в цитоплазме клетки. Он начинает секретироваться во внешнюю среду сразу после стимуляции целомоцитов соответствующими углеводными лигандами. Лизат гемоцитов обыкновенного омара Homarus vulgaris и речного рака Astacus leptodactylus содержит по крайней мере один ГА, который представлен и в гемолимфе. Продукция ГА лейкоцитами дождевых червей L. terrestris и E. foetida установлена также при их культивировании in vitro.

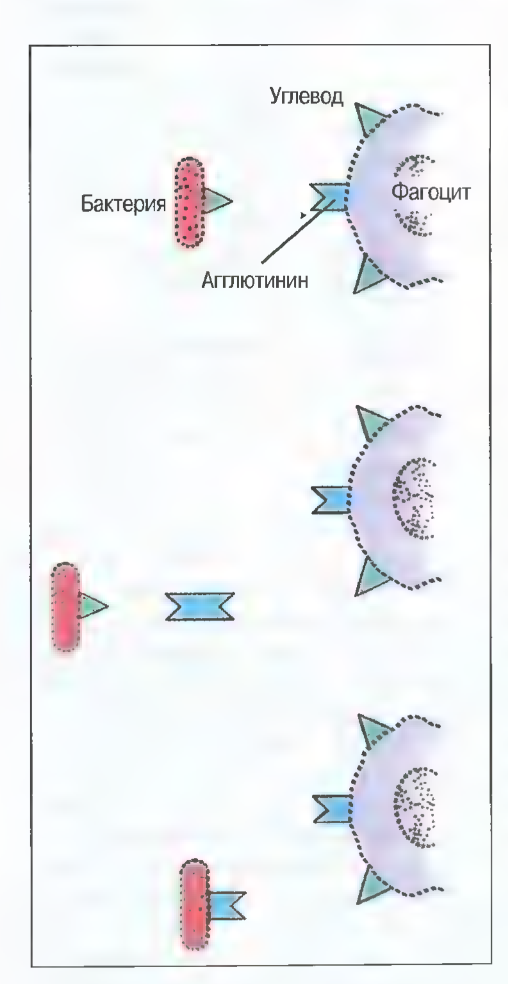


Рис. 6.5. Возможные способы взаимодействия между микроорганизмом и фагоцитами при участии углеводов и агглютининов (лектинов), свободных или фиксированных на поверхности клетки

Агглютинины являются не только внутриклеточными компонентами и составной частью гемолимфы, но и выступают в качестве клеточных рецепторов (рис. 6.5) при использовании модели розеткообразования между гемоцитами насекомого Extatosoma tiaratum и эритроцитами кролика. В условиях культуры in vitro около 11% плазматоцитов и 58% гранулоцитов образуют розетки с эритроцитами. В реакции задержки предварительная обработка гемоцитов лактозой, D-галактозой, асиалофетуином снижает число розеток. Этот факт указывает на те компоненты поверхности эритроцитов, которые включены в образование связи с агглютининами мембраны гемоцитов изученного насекомого. Аналогичные результаты получены при работе с тараканом Periplaneta americana. Антитела к галактозилсвязывающему лектину, выделенному из гемолимфы, взаимодействовали с гемоцитами насекомого. Специфичность взаимодействия установлена в реакции задержки с галактозой или белками, имеющими концевые галактозидные радикалы (муцин желудка свиньи, фетуин).

Экспрессия агглютининов на поверхности гемоцитов продемонстрирована также при работе с оболочником Ascidia malaca. Из гемолимфы этого животного был выделен белок с молекулярной массой 58 кДа, который специфически взаимодействовал с D-галактозой. Иммуно-

флюоресцентным методом с использованием антител к данному белку показана экспрессия изученного агглютинина на 34% малых, средних и больших гемоцитов. При работе с гемоцитами другого оболочника – Phallusia mamillata – с поверхности клеток выделены два α-лактозоспецифических агглютинина (молекулярная масса 39,6 и 35 кДа соответственно). Гемоциты, экспрессирующие эти лектины, образуют розетки с эритроцитами.

Одним из свойств агглютининов (лектинов) является их способность выступать в качестве опсонизирующих факторов через процесс взаимодействия с углеводными компонентами корпускулярными антигенами. В прямых наблюдениях показано взаимодействие меченых белков плазмы моллюсков Biomphalaria globrata со спороцитами Schistosoma mansoni. Причем реагирующие белки были представлены только у резистентной к данному возбудителю линии моллюсков. Белки чувствительной линии животных не образовывали комплекса с возбудителем.

Опсонизирующая активность гемолимфы двустворчатого моллюска Corbicula fluminea полностью отменяется предварительной адсорбцией на эритроцитах кролика или инкубацией с углеводами 2-деокси-D-глюкозой и N-ацетил-S-галактозамином. Выделено четыре основных агглютинирующих белка с молекулярной массой 20, 40, 66 и 200 кДа. Моноклональные антитела к этим белкам отменяют их опсонизирующее действие. Наибольшей активностью в качестве опсонина обладает белок с молекулярной массой 40 кДа, построенный из двух субъединиц, связанных ковалентно.

Опсонизирующая активность обнаружена у галактозоспецифического агглютинина личинок падальной мухи Calliphaga vomitoria. У морского ежа Spongylocentrous nudus, иммунизированного эритроцитами, целомическая жидкость приобретает опсонизирующие свойства, наиболее ярко проявляющиеся на пятые сутки после введения антигена.

Дополнительные функции агглютининов. Основным установленным к настоящему времени дополнительным свойством агглютининов является их способность обеспечивать хемотаксис. Например, хемотаксическая активность продемонстрирована с гемоцитами улитки Viviparus malleatus. Гемоциты этих моллюсков начинают движение по направлению к бактериям Staphylococcus aureus только при наличии в среде агглютининов к этим микроорганизмам. Прикрепление агглютининов к бактериям, их фагоцитоз, выделение фагоцитирующими клетками хемотаксического фактора и, наконец, собственно миграция гемоцитов приводят к направленной миграции.

Неиммунные функции агглютининов касаются транспорта ионов Ca^{2+} и углеводов, контроля реагрегации клеток, регуляции симбиотических отношений.

6.2.3. Система комплемента

При рассмотрении вопроса о наличии элементов системы комплемента у беспозвоночных следует сразу же обратить внимание на следующее обстоятельство. Из имеющихся двух путей активации данной системы: классического и альтернативного, внимание в первую очередь должно быть обращено на второй, альтернативный путь активации. Подобное утверждение связано с очевидным фактом — отсутствием секретируемых антител у беспозвоночных. Если классический путь активации системы комплемента зависит от комплекса антиген–антитело, взаи-

модействующего с мононуклеарными фагоцитами, то для включения в ответ альтернативного пути антитела не требуются — достаточно простого взаимодействия патогена с фагоцитирующими или иными клеточными элементами.

Независимо от того по какому пути пошла активация системы комплемента (имеются в виду позвоночные животные), результатом такой активации на заключительной стадии является образование одних и тех же эффекторных молекул. Белки системы комплемента, как об этом уже говорилось выше, способны выполнять три основные функции: выступать в качестве медиаторов воспаления (C4a, C3a, C5a); выполнять функцию опсонинов, взаимодействующих с патогеном (C3b); образовывать на поверхности чужеродной клетки литический комплекс (C5b, C6, C7, C8, C9).

До определенного времени считалось, что все беспозвоночные лишены комплементарной активности при формировании неспецифической защиты от патогена. Однако в самом начале 80-х годов прошлого века наблюдали, что фактор яда кобры, препятствующий формированию реакций системы комплемента у позвоночных животных, подавляет иммунный ответ у пчелиной огневки Galleria mellonella и у морского ежа Strongylocentrotus droebachiensis. Именно эти факты позволили сделать предположение о наличии у данных видов какой-то комплементподобной системы.

В настоящее время проблема участия системы комплемента в формировании неспецифического иммунитета у беспозвоночных обогащена определенным количеством бесспорных фактов. Так, у морского ежа St. purpuratus было идентифицировано два компонента, имеющих значительную гомологию с C3 и фактором B (Bf) позвоночных животных. Их обозначили как SpC3 и SpBf соответственно. SpC3 является индуцибельным белком и появляется в гемолимфе в значительном количестве после активации иммунной системы, в частности, бактериальными липополисахаридами. В то же время SpBf — конституционный, постоянно представленный в жидкостях белок в незначительной концентрации. Основная функция этих компонентов примитивной системы комплемента — опсонизация, обеспечение наиболее эффективного захвата патогена фагоцитирующими клетками. Гомологичные компоненты комплемента, обнаруженные у асцидий (оболочников), получили название по таксономическому определению этих полухордовых животных — AsC3 и AsBf.

6.2.4. Антимикробные пептиды

В настоящее время известно около 400 антимикробных факторов, которые имеются не только у беспозвоночных, но также у позвоночных животных и у растений. Основные свойства антимикробных факторов следующие.

1. Факторы индуцибельны. Их продукция начинается после проникновения возбудителя в организм.

2. Они представляют собой пептиды, молекулярная масса которых колеблется в основном в пределах 3–20 кДа.

3. Факторы могут либо лизировать бактерии, проявляя тем самым бактериолитические свойства, либо подавлять рост микроорганизмов, обеспечивая бактериостатическое действие.

4. Антимикробные факторы подавляют патогенность как грамотрицательных, так и грамположительных бактерий, а также грибов. Более того, некоторые из низкомолекулярных пептидов обладают антивирусной активностью.

5. Большинство антимикробных факторов образуется в гемоцеломоцитах и клетках жирового тела (функциональном эквиваленте печени млекопитающих).

Некоторые антимикробные факторы способны в ответ на инвазию либо повышать базовый уровень продукции подобно агглютининам и гемолизинам, либо демонстрировать истинную реакцию индукции от нулевого уровня.

Примером индукции антимикробных факторов являются опыты с личинками мухи Phormia terranovae. Удалось показать, что через 6—12 ч после введения насекомым бактерий в крови появляются 5—6 низкомолекулярных основных белков. Наибольшей антибактериальной активностью обладает полипептид с молекулярной массой 9 кДа. Литическая активность у данного белка отсутствовала.

Как и у мух, индуцируемый синтез антибактериальных пептидов обнаружен у москитов Aedes aegipti, зараженных микрофиляриями.

Наиболее развернутая информация стала приходить с 1981 г. от группы, руководимой Boman. Он и его коллеги в качестве объекта изучения использовали куколку Hyalophora cecropia. Куколки имеют достаточное количество гемолимфы и характеризуются снижением обменных процессов до минимума. Полноценно работают только гены, контролирующие продукцию защитных от патогенов белков.

Малые дозы живых непатогенных бактерий индуцируют антимикробные факторы. Инъекция раствора соли или повреждение внешнего покрова также обеспечивает некоторый гуморальный ответ, но значительно уступающий таковому при использовании бактерий. Антимикробные факторы после введения бактерий появляются с некоторой задержкой, приблизительно через 10 ч, и достигают пика к восьмому дню, а затем постепенно снижаются. Продукцию фактора в лаг-период можно подавить актиномицином D или гексимидом. Эти данные указывают на то обстоятельство, что фактор синтезируется de novo, о чем свидетельствует необходимость синтеза РНК.

В результате иммунизации индуцируется продукция около 15 защитных белков (табл. 6.5). Основной в количественном отношении белок с молекулярной массой 48 кДа получил обозначение P4. Неожиданным оказался факт отсутствия у данного белка антибактериальных свойств. Однако его количественное доминирование и способность к синтезу только после антигенной стимуляции позволяют думать о его причастности к защитной функции либо в виде комплексирования с другими антибактериальными факторами, либо в форме вспомогательного обеспечения обменных процессов, приводящих к синтезу активных участников антибактериальной защиты.

Второй основной белок условно назван P5. Вначале предполагалось, что он имеет молекулярную массу 95 кДа и включает четыре субъединицы с одинаковой молекулярной массой. Позднее удалось установить, что P5 не является единым молекулярным образованием и представляет собой комплекс из шести близкородственных белков с равной молекулярной массой около 22 кДа. Данная группа близкородственных белков получила общее название аттацины A—F. Аттацины делят на две подгруппы в соответствии с аминокислотным составом и последовательностью N-концевых аминокислотных остатков. Подгруппа A—D включает четыре белка с основными свойствами. Подгруппа E—F представляет собой кислые белки. Аттацины характеризуются узким спектром антибактериальной активности, направленной против грамотрицательных бактерий. Механизм их антибактериальной активности связан, по-видимому, с подавлением клеточного размножения.

Таблица 6.5.

Характеристика иммунных белков Hyalophora cecropia

Название белка	Молекулярная масса, Да	Биологические свойства
P4	48 000	Основной иммунный белок, но не проявляющий антибактериальных свойств
P5 (аттацины A–F)	21 000 –23 000	Ограниченный спектр антибактериальной активности в отношении некоторых грамотрицательных бактерий
P7 (лизоцим)	15 000	Убивает некоторые грамположительные бактерии
P9 (цекропины):		
A	4 000	Убивает как грамположительные, так и грамотрицательные бактерии
B	4 036	То же
C	4 000	Предшественник или продукт деградации цекропина A
D	4 000	Убивает как грамположительные, так и грамотрицательные бактерии
E	4 000	Предшественник или продукт деградации цекропина D
F	4 000	?
G	?	?

Следующий защитный белок P7 сходен с лизоцимом других насекомых по аминокислотному составу, pH профилю и бактериолитическим свойствам.

Белки P9 образуют семейство близкородственных соединений, которые могут быть использованы в качестве эффективных антибиотиков. Первоначально было обнаружено только два белка – P9A и P9B – этого семейства (современное их обозначение – цекропин A и цекропин B соответственно). В последующем удалось выявить шесть самостоятельных полипептидов, получивших название цекропины A–F, а также дополнительный фактор G, который также относят к группе цекропинов.

Цекропиноподобные молекулы встречаются и у других видов насекомых, таких как Anthereae pernyi, G. mellonella, мясная муха Sacrophaga peregina, дрозофилы.

Существуют две модели, объясняющие включение синтеза цекропинов в ответ на бактериальную инвазию. По первой из них проникший микроорганизм захватывается гемоцитами (плазматоцитами и гранулярными клетками), которые после поглощения антигена приходят в контакт с клетками жирового тела. Известно, что именно в клетках жирового тела происходит активация белоксинтезирующей системы при иммунизации.

Вторая – гуморальная модель – подразумевает действие на клетки жирового тела растворимых факторов, выделяемых фагоцитирующими клетками. Гранулярные клетки после захвата микроорганизмов или в результате повреждения покровов тела дегранулируют, выбрасывая во внеклеточную среду агглютинины и, возможно, профенилоксидазу. Эти компоненты разрушенных гемоцитов действуют непосредственно на клетки жирового тела, заставляя их синтезировать цекропины. Обе модели пытаются объяснить, почему защитные белки данной группы продуцируются только после антигенного раздражения или механического повреждения покровов.

Особый интерес при изучении антимикробных пептидов вызывают исследования по индукции этих пептидов у плодовой мушки Drosophila melanogaster. Гемолимфа взрослых интактных мух в норме не содержат антибактериальных веществ, способных подавлять размножение бактерий. Однако после введения мухам возбудителя в их гемолимфе обнаруживается до семи новых полипептидов (табл. 6.6). Белки появляются в гемолимфе уже через 3–10 ч после заражения и сохраняются в организме около 60 дней.

Таблица 6.6.

Индуцибельные антимикробные пептиды у Drosophila

Пептид	Активность против	Число генов	Концентрация в крови, мМ	Эпителий тканей (органов), продуцирующий пептиды
Диптерицин	Грамотрицательных бактерий	2	0,5	Средний кишечник
Аттацин	То же	4		То же
Дрозоцин	»	1	40	Каликс, яйцевод, трахея
Цекропин	»	4	50	Семяприемник, сперматека
Дефенсин	Грамположительных бактерий	1	1,0	Семяприемник, сперматека, лабеллярные железы
Мечниковин	Грибов	1	40	Лабеллярные железы
Дрозомицин	»	7	100	Лабеллярные железы, семяприемник, сперматека, трахея, слюнные железы

Забегая вперед, сразу же следует отметить, что с эволюционной точки зрения важным является факт общности механизмов при инициации данной формы неспецифического ответа у насекомых и млекопитающих (рис. 6.6).

Защитные механизмы у дрозофилы активируются двумя различными сигнальными путями. Один из них, получивший название Toll-активирующий путь, контролирует резистентность к грамположительным бактериям и грибам. Второй, обозначаемый как Imd, обеспечивает защиту от грамотрицательных бактерий.

На клетках жирового тела дрозофилы экспрессируется Toll-рецептор, ассоциированный с белком Spaetzle. Всего таких гомологичных рецепторов девять, но только для одного из них известно пока участие в формировании защиты от грамположительных бактерий и грибов. Разрушение в фагоцитирующих клетках указанных патогенов сопровождается активацией протеолитических ферментов и, как следствие, разрушением белка Staetzle, что в свою очередь является сигналом к развитию Toll-пути. Освободившийся от ингибиции Toll-рецептор индуцирует каскад внутриклеточных реакций с участием киназ. В результате происходит отщепление и разрушение белка Cactus, который в норме блокирует транскрипционный фактор DIF (DIF, Relish, NF-kB относятся к одному и тому же семейству транскрипционных факторов). После снятия блокады DIF проникает в ядро клет-

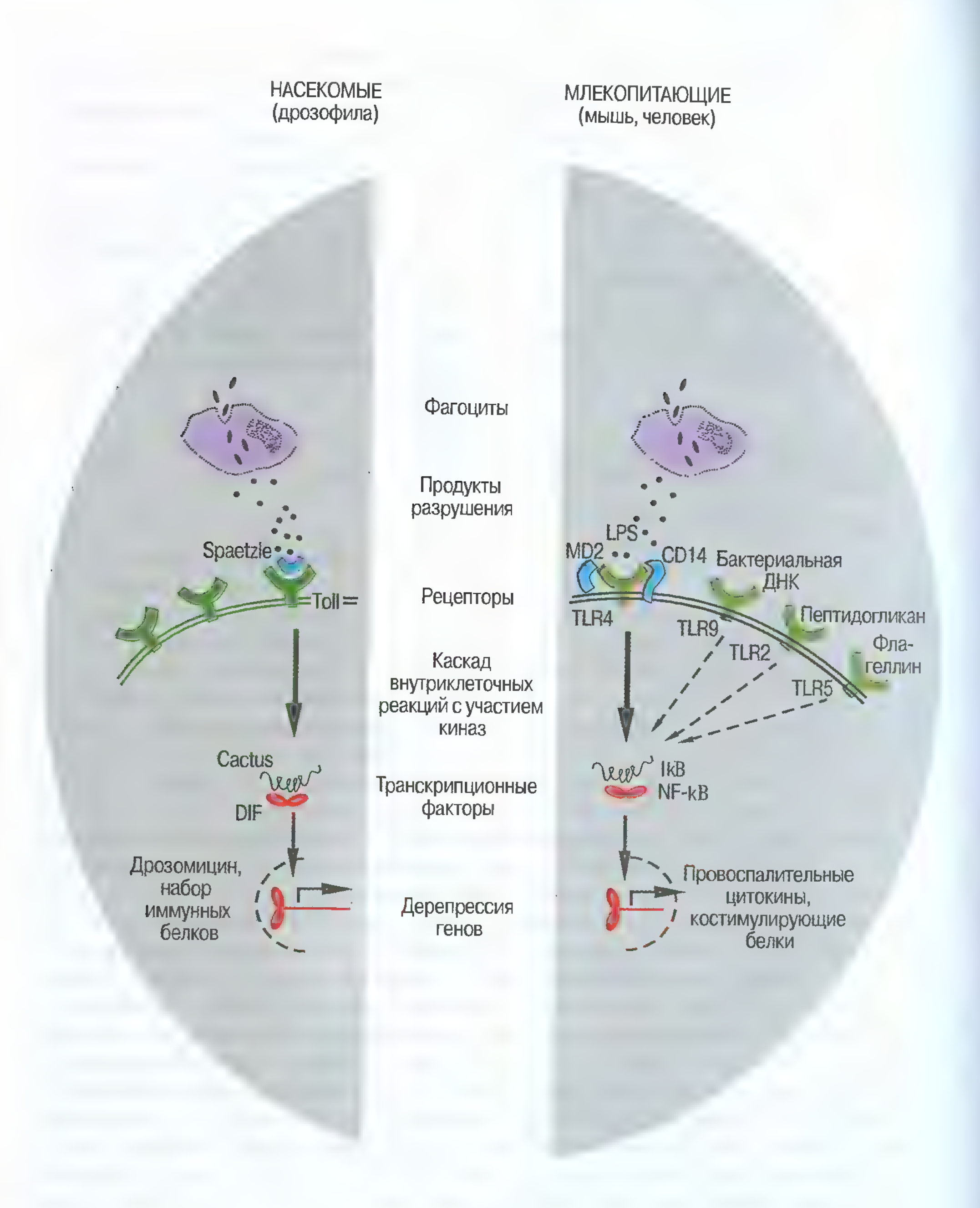


Рис. 6.6. Toll-зависимый путь активации антимикробных пептидов у дрозофилы и регуляторов иммунитета у млекопитающих

Объяснения см. в тексте

ки и активирует транскрипцию большого набора генов (возможно, несколько сотен). Преимущество среди этих генов принадлежит тем, которые контролируют синтез антигрибковых пептидов дрозомицина и мечниковина.

Таким образом, путь активации антимикробных пептидов, направленных против грибов и грамположительных бактерий, представлен рядом последовательных событий: поглощением патогена фагоцитирующими клетками, отсутствием прямого взаимодействия патогенов или их компонентов с Toll-рецептором, активация рецептора начинается после снятия блокады со стороны Spaetzle, освобожденный после блокады Toll-рецептор обеспечивает развитие внутриклеточного каскада реакций, результатом которых является взаимодействие транскрипционного фактора DIF с промотором генов, кодирующих синтез антигрибковых пептидов и пептидов против грамположительных бактерий.

В сравнительно-эволюционном плане существенным является информация о том, что клетки млекопитающих имеют Toll-подобные рецепторы (от англ. Toll like receptors – TLRs). Всего к настоящему времени обнаружено десять таких гомологичных рецепторов. Известно селективное взаимодействие TLRs с определенными продуктами патогенов: TLR2 распознает пептидогликаны и бактериальные липополисахариды; TLR3 – двойную спираль РНК; TLR4 – липополисахарид и липотейхоивую кислоту; TLR5 – флагеллин; TLR6 – липопептиды микоплазмы. Если активация Toll-рецептора не связана с прямым взаимодействием с патогеном или его компонентами, то TIR, напротив, получает прямой сигнал от патогена через ассоциированный с TIR комплекс. Этот эффект иллюстрируется в деталях для TLR4, комплексированного с белком, связывающим LPS (LBP), рецептором CD14, взаимодействующим с LPS, и корецептором MD2. Взаимодействие TLRs с теми или иными продуктами микробов приводит к активации каскада внутриклеточных реакций, следствием которых является освобождение NF-kB – ядерного транскрипционного фактора, гомолога DIF дрозофилы, от блокатора IkB – гомолога Cactus. Свободный NF-kB проникает в ядро и взаимодействует с промотором для генов провоспалительных цитокинов, костимуляторных белков.

Второй путь активации, получивший название Imd, индуцирует транскрипцию большого числа генов, которые кодируют, в частности, синтез диптерицина, цекропина, дрозоцина и аттацина (см. табл. 6.6). Основным транскрипционным фактором в этом пути активации является Relish. Именно он обеспечивает включение генов для синтеза перечисленных выше белков. Существенным моментом в данном случае является сходство внутриклеточных событий при активации Imd-пути у дрозофилы и действия фактора некроза опухолей-α (ФНО-α) на клетку у млекопитающих. Как в первом, так и во втором случаях проявляется побочный процесс активации факторов апоптоза, формирования белкового комплекса (сигналосомы), снимающего блокаду с транскрипционных факторов, включение в процесс транскрипции гомологичных Relish у дрозофилы и NF-kB у млекопитающих, относящихся к единому семейству Rel – инициаторов транскрипции.

Общность молекулярно-генетических механизмов при формировании неспецифической противоинфекционной защиты у насекомых и млекопитающих указывает на то обстоятельство, что зарождение этих механизмов происходило еще до дивергенции животных на первично- и вторичноротых.

6.2.5. Антителоподобные факторы

В настоящее время сформировалось мнение о том, что беспозвоночные животные, имея эффективные средства неспецифической иммунной защиты, лишены специфических форм гуморального реагирования на чужеродные антигены. Однако исследователей никогда не покидало желание открыть «нечто», что говорило бы о наличии аналогичной или, может быть, гомологичной позвоночным животным системы специфической иммунной защиты. Интерес к проблеме поддерживается известными фактами о присутствии молекулярных предшественников суперсемейства иммуноглобулинов у представителей низкоорганизованных таксономических групп, включая одноклеточных.

С конца 1970–начала 1980-х годов появляются первые сообщения о способности беспозвоночных животных (насекомые, кольчатые черви, иглокожие и др.) продуцировать молекулярные структуры с антителоподобными свойствами и формировать специфическую иммунологическую память.

Так, при работе с американским тараканом Periplaneta americana было показано, что у этих насекомых можно индуцировать гуморальный иммунный ответ к яду пчелы или змеи. Максимальный ответ на первичную иммунизацию регистрируется через две недели. Ответ специфичен, так как сенсибилизированные животные оказываются защищенными от летальной дозы только того яда, который был использован при иммунизации. Повторное введение гомологичного антигена приводит к формированию вторичного ответа. Адоптивный перенос гемолимфы от сенсибилизированных насекомых к интактным обеспечивает защиту последних от смертельной дозы яда. Гипериммунная сыворотка образует специфические полосы преципитации с соответствующим антигеном в реакции Оухтерлони. Обработка иммунной гемолимфы протеолитическими ферментами отменяет как протективный эффект гемолимфы, так и ее способность образовывать полосы преципитации. Самки P. americana характеризуются более интенсивным и более продолжительным гуморальным ответом по сравнению с самцами, это аналогично тому, что наблюдается у позвоночных животных. Старые, пятимесячные тараканы обладают несколько сниженной реактивностью по сравнению с молодыми особями.

Поиск антителоподобных факторов был проведен и у кольчатых червей. Известно, что дождевые черви L. terrestris и E. foetida способны к специфическому алло- и ксенотрансплантационному отторжению. При развитии реакции отторжения аллотрансплантата в целомической жидкости L. terrestris появляются субстанции, способные специфически лизировать донорские клетки в органной культуре, но они оказываются неэффективными по отношению к культурам, полученным от животных, не принимавших участия в трансплантационном переносе. При иммунизации L. terrestris эритроцитами барана в целомической жидкости накапливаются как естественные, так и индуцированные гемагглютинины. Последние характеризуются наличием иммунологической памяти. Иммунизация червей разными гаптенами, конъюгированными с белковыми носителями (бычий сывороточный альбумин, гемоцианин), приводит к накоплению в целомической жидкости специфических антителоподобных молекул, которые обнаруживаются через 24 ч после введения антигена. Повторная иммунизация обеспечивает более быстрое накопление специфических веществ и более выраженный ответ.

В линии вторичноротых специфические антителоподобные факторы были обнаружены у морской звезды Asterias rubens. Клетки аксиального органа этих животных после стимуляции in vivo или in vitro конъюгатами гаптенов (тринитрофенил, флуоресцеин изотиоционат) с полиакриламидом продуцируют специфические гемолизины (оценка по лизису эритроцитов барана, конъюгированных с соответствующими гаптенами). Эритроциты, конъюгированные с гетерологичным гаптеном, или интактные эритроциты не подвергались лизису. Реакция лизиса была комплементзависимой. Фактор с антителоподобными свойствами представляет собой белок с молекулярной массой около 120 кДа и состоит из четырех субъединиц, которые нековалентно объеденены в единую молекулу. Бесспорно, представленные данные возбуждают воображение и нарушают один из постулатов иммунологии, гласящий, что специфический гуморальный иммунный ответ в виде синтеза специфических антител есть прерогатива позвоночных животных. Однако факты остаются фактами, даже если они не укладываются в ту или иную концепцию, а потому требуют объяснения.

Известно, что ряд белков, относяшихся к суперсемейству иммуноглобулинов (антиген Thy-1, β2-микроглобулин, однодоменный P_0 белок миелина, отдельные цепи гетеродимерных Т-клеточных рецепторов, молекулы главного комплекса гистосовместимости), появляются в эволюции задолго до возникновения собственно иммуноглобулинов. Возможно, гуморальные вещества, функционально напоминающие антитела, не являются собственно иммуноглобулинами в современном понимании этой группы белковых молекул, но принадлежат к иммуноглобулиновому суперсемейству, обладая определенными пределами специфичности. В подтверждение этой точки зрения следует привести примеры недавно проведенных исследований на моллюсках. У Limnaea обнаружен белок, содержащий пять доменов С2-типа из суперсемейства иммуноглобулинов, который включен в реакцию против паразитов. Он получил название защитная молекула моллюска (сокр. от англ. MDM). Реакция против паразитов у другого моллюска Biomphalaria glabrata осуществляется белками, родственными фибриногену (сокр. от англ. FREP). Эти белки обладают на N-конце доменом, который гомологичен V-доменам иммуноглобулинов. Действуя как лектины, FREP преципитируют белки, продуцируемые паразитами.

* * *

Из данных, представленных в этой главе, ясно, что огромное множество беспозвоночных – от губок и кишечнополостных до членистоногих и оболочников – имеет вполне активный и достаточно широкий набор защитных факторов от патогенных агентов, с которыми им приходится сталкиваться в своей среде обитания. Это общее положение, основанное на большом фактическом материале, не отвечает, однако, на существенный вопрос об относительном участии клеточных и молекулярных механизмов в инфекционном процессе. Вероятно, в каждом конкретном случае в зависимости от таксономической принадлежности животного и вида патогена удельный вес гуморального и клеточного звеньев варьирует, а их относительная роль смещается то в сторону гуморальных, то в сторону клеточных форм защиты. Кроме того, возможно включение в процесс противодействия инфекции и таких форм реагирования, которые не связаны прямо с классическими путями неспецифического противоинфекционного иммунитета.

Интегральным показателем эффективности противоинфекционной защиты является скорость очищения гемолимфы от патогена. Показано, что у виноградной улитки Helix pomatia, зараженной Serratia marcescens в дозе $1 \cdot 10^9 - 1 \cdot 10^{11}$, гемолимфа очищается от патогена на 95% в течение 30 мин. Известно, что улитка содержит приблизительно $2 \cdot 10^5$ гемоцитов. Если принять, что каждый гемоцит способен к фагоцитозу, то следует признать способность одной клетки захватывать и уничтожать до $1 \cdot 10^6$ бактерий. Величина слишком велика, чтобы верить в ее реальность. Очевидно, процесс элиминации не столь прямолинеен и связан с включением дополнительных клеток, не относящихся к фагоцитирующим клеточным элементам, а также гуморальных факторов гемолимфы.

О быстроте элиминации микроорганизмов из гемолимфы свидетельствуют и многие другие сообщения. Так, у прудовика Lymnea stagnalis гемолимфа очищается от бактерий Staphylococcus saprophyticus на 99% через 1 ч после заражения. Гемолимфа двустворчатого моллюска Mercenaria mercenaria освобождается от E. coli на 90% через 4 ч от момента введения микроорганизмов. У полихеты Arenicola marina 92% Bacillus cereus уничтожается за 1 ч при дозе $1 \cdot 10^7$ микробных тел на 1 мл целомической жидкости. Очищение жидкости тела сопровождается ярко выраженной целомоцитопенией. Аналогичные скорости выведения патогенов обнаружены также у ракообразных, иглокожих, оболочников. Ясно, что за всеми этими данными скрываются комплексные механизмы защиты как гуморальной, так и клеточной природы.

Исследования на брюхоногих моллюсках показали, что процесс очищения гемолимфы от патогена и тест-частиц связан не только с активностью свободных фагоцитирующих клеток, но и с фиксированными фагоцитами, а также с клетками, выстилающими синусы печени, мышц ноги, которые способны фиксировать инородные частицы. При работе с Helix pomatia и ^{14}C-меченными бактериями установлено, что доминирующим органом в очищении гемолимфы является печень. Повышенная способность печени осуществлять элиминацию микроорганизмов коррелирует с количеством фиксированных фагоцитов в этом органе и наличием соответствующих агглютининов на эпителиальных клетках синусов.

У ракообразных хорошо документирована роль гепатопанкреаса и жабер в удалении тест-частиц из циркуляции. Так же как у брюхоногих моллюсков, значительный удельный вес приходится именно на фиксированные фагоциты.

В целом есть общее представление о том, что очищение организма от патогенов происходит в результате совместной работы гуморальных и клеточных механизмов защиты.

О сопряженности этих двух форм защиты говорят, по крайней мере, три группы фактов.

1. Гуморальные факторы способны распознавать чужеродные антигены, выступая в качестве опсонинов. К гуморальным факторам подобного рода следует отнести группу агглютининов, свободных или фиксированных на клеточной поверхности, компоненты профенилоксидазной системы, а также различные лимфокинподобные факторы. Эта группа гуморальных соединений выступает в качестве усилителей клеточной реакции, направленной на поглощение и внутриклеточное переваривание патогенов.

2. Такие гуморальные факторы, как лизины, бактериоцитидины, цекропины, аттацины и другие, ответственны за прямое уничтожение циркулирующих патогенов, которые смогли ускользнуть от захвата фагоцитирующими клетками. В данном случае гуморальные факторы с литической активностью выступают в качестве дополнительного механизма к клеточным формам защиты.

3. Наилучшим доказательством единства гуморальных и клеточных форм реагирования у беспозвоночных являются данные о том, что продуцентами растворимых факторов являются фагоцитирующие клетки крови, гемолимфы, целома или специальных лимфоидных образований. Так, за продукцию агглютининов у моллюсков, ракообразных, насекомых ответственны клетки крови. Лимфокинаподобный фактор морской звезды выделен из целомоцитов. Лизоцим – один из общих антибактериальных факторов сыворотки, синтезируется, по крайней мере, частично в лейкоцитах моллюсков и насекомых. Гемолизины оболочников выделены из целомоцитов. Аналогично бактериоцидины омара и морского ежа также являются производными лейкоцитов. Антибактериальные факторы насекомых продуцируются эпителиальными клетками жирового тела.

Несмотря на невозможность установления строгого количественного соотношения относительно участия клеточного и гуморального звеньев в реакциях антимикробной защиты, ясно, что невосприимчивость организма беспозвоночных зависит от комплексной работы двух рассмотреннных здесь форм защиты.

Нерешенным остается вопрос о природе гуморальных веществ, которые по функциональным признакам (специфичность, индуцибельность, память) напоминают иммуноглобулины позвоночных животных. Для решения этого вопроса необходимы дальнейшие молекулярно-структурные и функциональные исследования.

Глава 7. ЭВОЛЮЦИЯ КЛЕТОК, ТКАНЕЙ И ОРГАНОВ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ

Возникновение многоклеточных животных в докембрии (более 2 000 тыс. лет т.н.) было сопряжено с функциональной и морфологической дифференцировкой клеток на различные типы. Уже у наиболее примитивных многоклеточных – губок (Porifera), насчитывается около восьми самостоятельных, хотя и способных к взаимной трансформации, клеточных форм. Достаточно разнообразен клеточный состав и в другом филуме низших многоклеточных – кишечнополостных (Coelenterata). Экто- и эндодерма этих животных включает, по крайней мере, шесть типов клеток.

По мере филогенетического совершенствования животных шло как прогрессивное, функциональное усложнение уже имеющихся клеток, так и возникновение новых клеточных форм. Так, у наиболее высокоорганизованных животных – млекопитающих, имеется, вероятно, более ста различных самостоятельных типов клеток.

Содержание данной главы ограничено сравнительно-эволюционным рассмотрением только тех клеток и органов, функция которых направлена на реализацию иммунологических потенций организма.

7.1. Клетки лимфомиелоидного комплекса у представителей различных типов животных

7.1.1. Простейшие (Protozoa)

Процесс фагоцитоза одноклеточными организмами описан неоднократно. Например, Amoeba bartmanella активно агрегирует на своей поверхности бактерии, которые в последуюшем оказываются заключенными в пищеварительные вакуоли.

Несмотря на то что фагоцитоз как самостоятельный иммунологический феномен является неспецифическим, тем не менее ему присуща определенная селективность. Показано, что Amoeba proteus, находясь в окружении реснитчатых микроорганизмов Chilomonas и Monas, внешне сходных между собой, фагоцитируют первых в сто раз активнее, чем вторых.

Некоторые одноклеточные организмы способны отличать не только ксеногенный материал, но, что самое удивительное, они дифференцируют «свое» от «не своего» на уровне индивидуальных (аллогенных) вариантов. При работе с раковинной амебой Arcella polypoda показано, что псевдоподия, отрезанная от той или иной особи, при восстановлении контакта быстро срастается с исходной клеткой. Происходит распознавание «своего». Подобная же псевдоподия в ряде случаев оказывается отторгнутой при контакте с другими индивидами того же вида. Культивирование потомков одной особи в разных условиях в течение недели приводит к возникновению определенного рода различий между особями разных культур, что проявляется в реакции несовместимости – разрушения клеток параллельных культур. Данные эксперименты демонстрируют способность одноклеточных организмов распознавать очень незначительные внутривидовые отличия, хотя природа такого распознавания, к сожалению, до сих пор неизвестна. Способностью распознавать чужеродный материал обладают и более совершенные Protozoa, каковыми являются реснитчатые простейшие. В роде Stentor особи различных рас одного и того же вида воспринимают их как свои собственные. В то же время ксеногенная внутриклеточная трансплантация приводит к гибели как трансплантируемого материала, так и реципиента.

Таким образом, уже одноклеточные организмы обладают способностью не только поглощать «грубые» органические вещества, проявляя фагоцитарную активность, но и тонко дифференцировать биологический материал, отличая собственные трансплантаты от алло- и ксенотрансплантатов.

7.1.2. Губки (Porifera)

Наиболее просто организованные первичные многоклеточные – губки, клетки которых еще не объединены в ткани, уже имеют морфологически и функционально самостоятельные клеточные типы. Среди них: пиканоциты – клетки, покрывающие внешнюю поверхность тела и стенки внутренних водоносных каналов; хоаноциты – сферические или кубоидальные, снабженные ресничками клетки, которые выстилают поверхность камер и обеспечивают движение воды в теле губок. Имеется также группа клеток, локализованных в мезоглее: колленциты и лофоциты, продуцирующие спонгин; склероциты, ответственные за форми-

рование игольчатых структур (спикул); миоциты – сократительные клетки; «серые клетки» – накопители гликогена. Особое место среди клеток мезоглеи занимают крупные, подвижные клетки – археоциты. Иное название этих клеток – блуждающие амебоциты. Эти клетки содержат в цитоплазме большое количество фагосом и лизосомальных структур, обладают большим пузырчатым ядром и хорошо развитыми ядрышками. Данные клетки очень лабильны и не имеют постоянной, строго очерченной формы. Предполагается, что данный клеточный тип тотипотентен и является предшественником всех других классов клеток у губок (рис. 7.1).

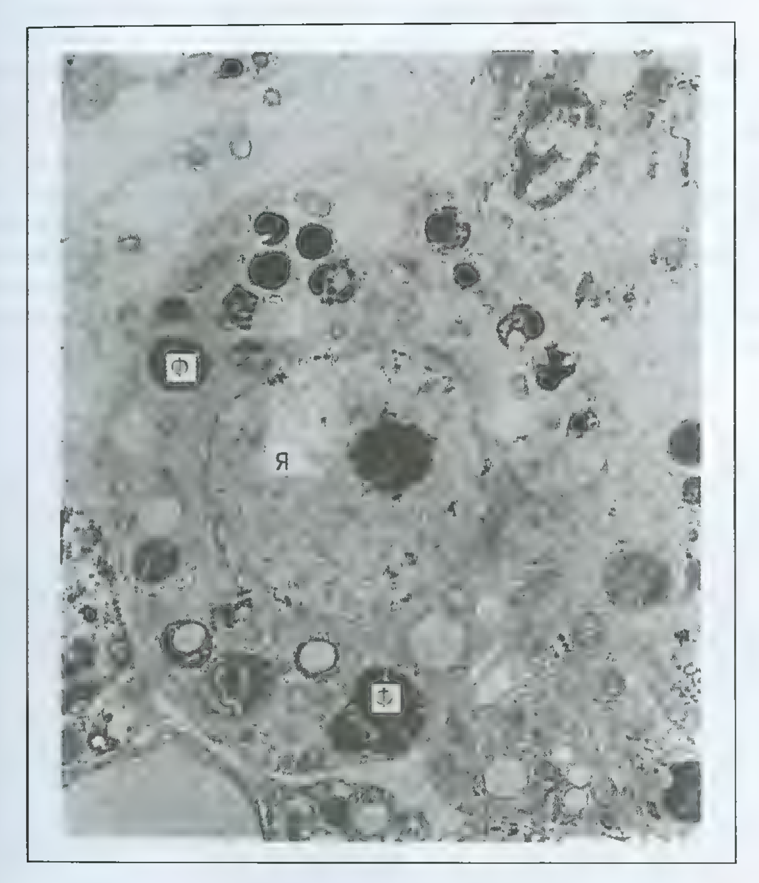


Рис. 7.1. Археоцит (блуждающий амебоцит) пресноводиой губки Ephydatia fluviatilis (увел. 32 250)
Я – ядро; Ф – фагосома

Хоаноциты, обеспечивая движение воды, одновременно фиксируют органические остатки и микроорганизмы на своей поверхности. Такой фиксированный материал захватывается затем блуждающими амебоцитами. Поглощенные микроорганизмы перевариваются, а продукты катаболизма транспортируются по всему организму.

У губок видов Terpios zeteki и Ephydatia fluviatilis описано два типа фагоцитирующих клеток: археоциты и колленциты. Они поглощают в условиях эксперимента широкий набор веществ: китайскую тушь, зерна кармина, эритроциты и др. Пинакоциты в зоне поражения ткани трансформируются в амебоидные клетки и участвуют в процессах регенерации поврежденного участка, препятствуя проникновению микроорганизмов в глубинные области тела. Представленный пример – лишь частный случай потенциальных возможностей к клеточным трансформациям у губок.

7.1.3. Кишечнополостные (Coelenterata)

Кишечнополостные (медузы, кораллы, морские анемоны) – двухслойные многоклеточные, обладающие истинно тканевыми образованиями в виде экто- и эндодермы. Между этими слоями находятся неструктурированная, желеобразная мезоглея. Среди клеток, входящих в тканевые слои, описаны такие формы, как стрекательные клетки, реснитчатые клетки, гликоциты, интерстициальные клетки. В мезоглее представлены в небольшом количестве блуждающие амебоциты, которые локализуются также в эндодерме, окружающей пищеварительный тракт. Помимо пищеварительной функции, блуждающие амебоциты принимают участие в трансплантационном отторжении. Другими клетками, претендующими на роль защитных клеточных элементов, являются подвижные интерстициальные клетки эктодермы (рис. 7.2).

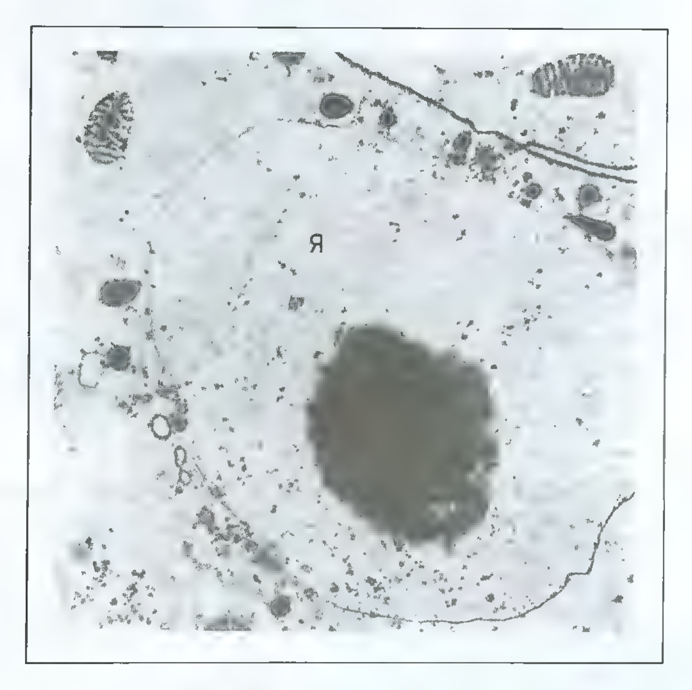


Рис. 7.2. Интерстициальная клетка пресноводной медузы Craspedacusta sowerbi (увел. 32 250)
Я – ядро

7.1.4. Кольчатые черви (Annelides)

Кольчатые черви – животные, значительно продвинутые в филогенетическом ряду. Они обладают вторичной полостью тела (целомом) и замкнутой кровеносной системой. Целомоциты олигохет (Olygohaeta) делят на пять основных типов: базофилы и нейтрофилы (гиалиновые амебоциты), гранулоциты и ацидофилы (гранулярные амебоциты) и хлорагогенные клетки (элеоциты). Данные электронной микроскопии позволяют отнести базофилы к лимфоцитоподобным клеткам двух типов: с большим или меньшим количеством псевдоподий (рис. 7.3). Эти клетки демонстрируют структурное сходство с незрелыми лимфоцитами позвоночных. Нейтрофилы напоминают макрофаги позвоночных животных (рис. 7.4). В их вакуолях заметны различного рода включения, в том числе и бактериальные клетки. Гранулоциты и ацидофилы – клетки с большим количеством включений и вакуолей. Элеоциты – клетки самой разнообразной величины. У них отсутствуют псевдоподии. Цитоплазма переполнена гранулами. Данный класс клеток выполняет функцию обеспечения организма питательными веществами. У кольчатых червей процесс фагоцитоза, инкапсуляции, распознавания чужеродности, трансплантационного отторжения и адаптивного переноса обеспечивается в основном амебоцитами гиалинового типа: лимфоцитоподобными амебоцитами первого и второго типов (базофилами), а также нейтрофилами, характеризующи-

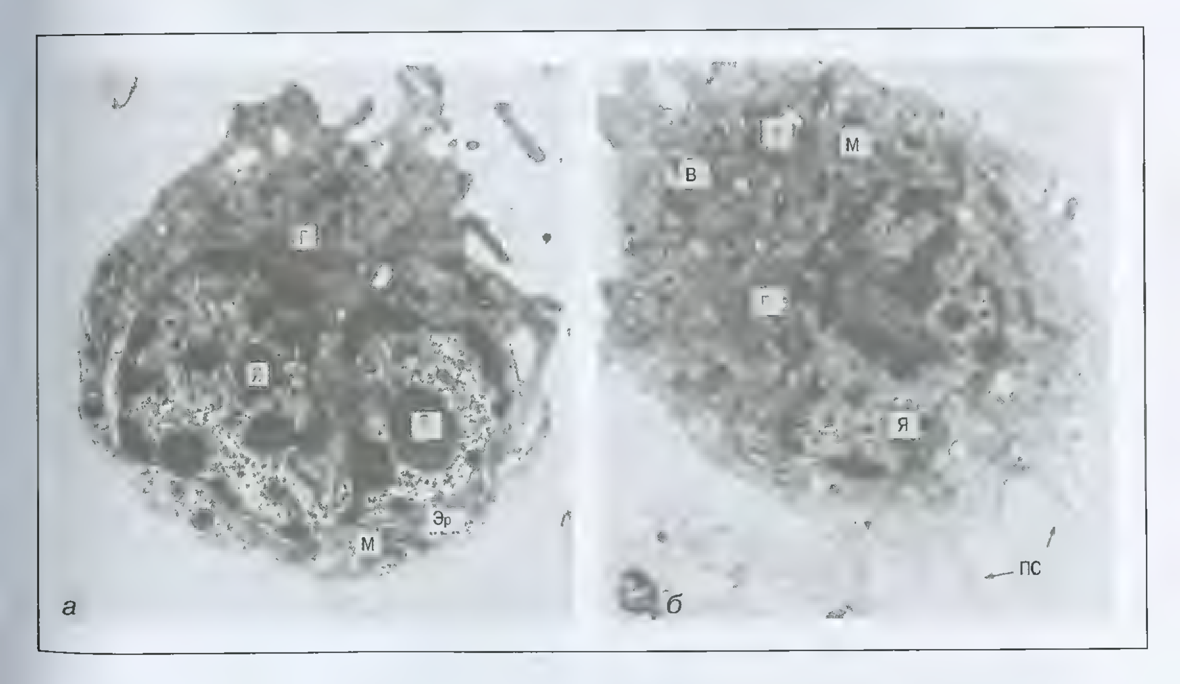


Рис. 7.3. Клетки из целомической жидкости дождевого червя Lumbricus terrestris

а – лимфоцитоподобный целомоцит типа I; *б* – то же типа II. Видны ядро (Я), плотное ядрышко (Яд), участки диффузного хроматина, шероховатый эндоплазматический ретикулум (Эр), небольшое количество митохондрий (М), хорошо представленный аппарат Гольджи (Г), вакуоли (В), псевдоподии (ПС)

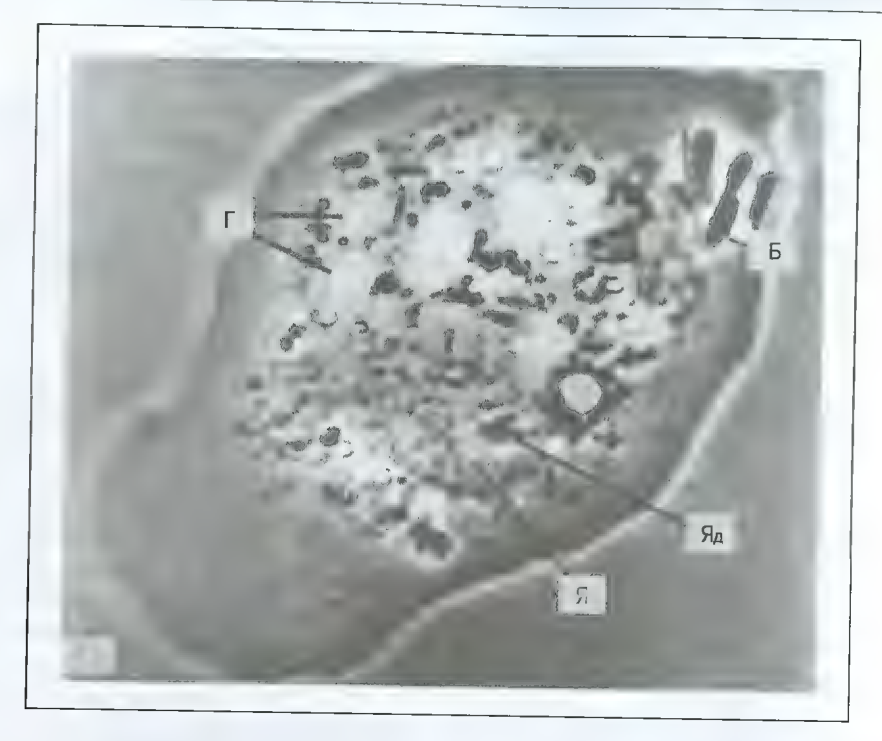


Рис. 7.4. Живой нейтрофил (макрофагоподобная клетка) дождевого червя Lumbricus terrestris

Видны фагоцитированные бактерии (Б), гранулы (Г), ядро (Я) и ядрышко (Яд)

мися способностью к активному фагоцитозу. Гранулярные клетки принимают незначительное участие в процессе фагоцитоза. Элеоциты вообще не фагоцитируют. Образование капсулы как реакции организма на крупные инородние частицы, каковыми являются, например, многоклеточные паразиты, осуществляется нейтрофилами, ацидофильными клетками и элеоцитами. Участие последних может быть объяснено их трофической функцией, но не иммунологической активностью. При отторжении алло- и ксенотрансплантатов в реакцию вступают в основном лимфоцитоподобные амебоциты и нейтрофилы-макрофаги.

Изучение клеточного состава гемолимфы кольчатых червей привело к важному заключению. У данных животных впервые наблюдается дивергенция клеток с иммунологическими потенциями на два самостоятельных типа: макрофаги (нейтрофилы), обеспечивающие неспецифическую защиту, и лимфоцитоподобные амебоциты — участники специфических форм реагирования.

7.1.5. Членистоногие (Arthropoda)

Членистоногие — наиболее развитый в эволюционном отношении тип первичноротых, они ведут свое начало от кольчатых червей. У хорошо изученного класса насекомых (Insecta) идентифицировано шесть типов лейкоцитов с той или иной формой иммунологической активности.

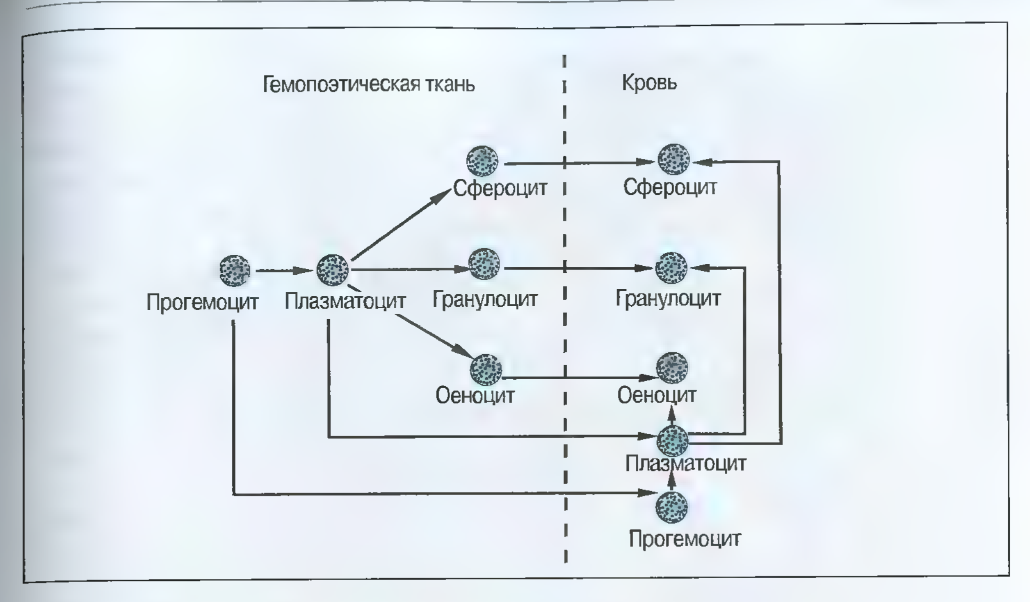


Рис. 7.5. Один из возможных путей дифференцировки гемоцитов у насекомых

Прогемоциты напоминают малые лимфоциты позвоночных животных. Эти клетки диаметром 8–9 мкм имеют круглую или овальную форму, содержат большое ядро. Цитоплазма располагается достаточно узкой полосой вокруг ядра и лишена значительных клеточных включений и органелл. Данные клетки составляют около 1% от общего количества лейкоцитов. Предполагается, что они являются стволовыми элементами для клеток гемолимфы.

Плазматоциты, составляющие около 45% циркулирующих лейкоцитов, являются высоко плейоморфными клетками. Называются они разными авторами по-разному: фагоциты, гранулоциты, макронуклеоциты, ламеллоциты. Их ядра занимают половину объема клетки. Цитоплазма содержит гранулы различной величины, митохондрии, лизосомы, хорошо выраженные микротрубочки. Плазматоциты являются наиболее активными фагоцитирующими клетками и проявляют свойства, характерные для макрофагов позвоночных: адгезируют к стеклу, активируются в присутствии чужеродных эритроцитов, выпускают псевдоподии и образуют розетки с эритроцитами. Кроме того, они способны реагировать на антигенные агрегаты, образуя вокруг чужеродного материала меланизированные капсулы.

Цистоциты – небольшие клетки с высоким ядерно-цитоплазматическим отношением. В цитоплазме обнаруживаются определенное число рибосом и плотные гранулы. Количество этих клеток превышает количество прогемоцитов.

Гранулярные клетки (адиногемоциты) являются второй в количественном отношении после плазматоцитов субпопуляцией лейкоцитов. Они достигают величины 20 мкм в диаметре и обладают хорошо выраженной цитоплазмой. Клетки имеют развитый аппарат Гольджи, эндоплазматический ретикулум и определенное число плотных гранул, содержащих муко- и гликопротеины и мукополисахариды, быстро разрушающиеся in vitro. Данный клеточный тип рассматривается как ана-

лог тучным клеткам позвоночных. Гранулярные клетки активны в таких реакциях неспецифической защиты, как образование узелков, заживление ран, коагуляция гемолимфы. Фагоцитарная активность у них выражена слабо.

Сфероидные клетки составляют 10–15% от общего количества лейкоцитов. Диаметр клеток колеблется от 5 до 15 мкм. Сфероциты содержат типичные округлые включения размером более 3 мкм. Данный тип клеток представляет, очевидно, конечную стадию дифференцировки гранулярных клеток.

Оеноциты (кристаллические клетки) являются характерным клеточным типом насекомых. Размер клеток около 40 мкм в диаметре. Ядро расположено эксцентрично. Недифференцированная цитоплазма включает несколько митохондрий, полирибосомы, определенное количество микротрубочек, собранных в связки. Количество клеток невысоко и составляет менее 5% от общего числа лейкоцитов. Оеноциты вносят свой вклад в процесс инкапсуляции.

Некоторые или все шесть клеточных типов, имеющихся у насекомых, могут быть обнаружены и у других членистоногих.

Вопрос о стволовом предшественнике гемопоэза у членистоногих, как, впрочем и у других животных, остается открытым. В ряде публикаций гистогенез конструируют от прекурсора прогемоцита. По этой схеме прогемоцит дает начало плазматоцитам, которые, являясь плюрипотентными, выступают в качестве предшественника гранулоцитов, сфероцитов и оеноцитов (рис. 7.5). В настоящее время выдвигаются и другие возможные пути развития.

7.1.6. Моллюски (Mollusca)

Моллюски представляют собой большой, четко очерченный тип первичноротых животных. Лейкоциты моллюсков, имеющие по терминологии различных авторов до 76 названий, делятся в настоящее время на два больших класса: гиалиновые клетки и гранулоциты. Округлые лимфоцитоподобные клетки, циркулирующие в гемолимфе (рис. 7.6), способны образовывать розетки с эритроцитами барана, так же как Т-клетки человека. Другая группа циркулирующих, гиалиновых клеток адгезирует на стекле, обладает способностью к распластыванию, активно фагоцитирует инертные частицы, отвечает кислородным взрывом на стимуляцию. По этим признакам отмеченная группа клеток напоминает макрофаги позвоночных животных. Данный тип клеток наиболее активен в фагоцитозе и инкапсуляции паразитов. Подобной активностью обладают и гранулоциты, хотя и в менее выраженной форме. Гранулоциты гистогенетически связаны со своими предшественниками – ретикулярными клетками соединительной ткани.

7.1.7. Иглокожие (Echinodermata)

Иглокожие – высокоорганизованные беспозвоночные, хотя в ветви вторичноротых занимают низшее положение. У представителей данного типа в крови и целомической жидкости обнаружены те же формы лейкоцитов, что и у насекомых. Однако имеется и дополнительный клеточный тип – вибрирующие клетки, вооруженные жгутиками и содержащие мукополисахаридные гранулы. Эти клетки коагулируют и разрушаются в процессе изоляции чужеродного корпускулярного материала, выполняя тем самым барьерную, защитную функцию.

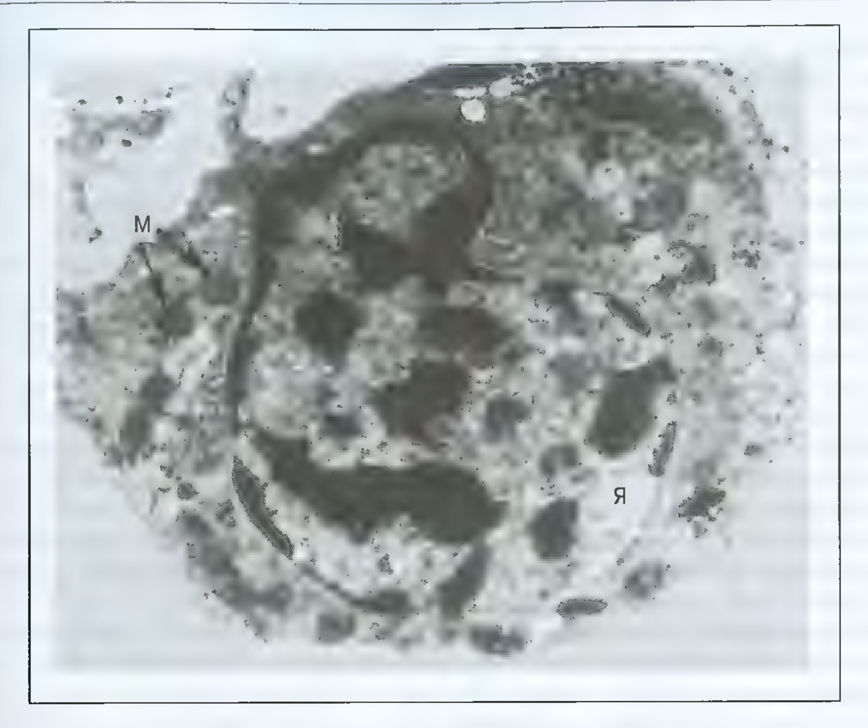


Рис. 7.6. Микрофотография лимфоцита обыкновенной мидии Mytilis edulis, полученная с помощью электронного микроскопа (увел. 16 000)

Четко обозначенное ядро (Я) имеет классическую для лимфоцита выемку, митохондрии (М)

У иглокожих трансплантат инфильтруется лимфоцитами, гранулоцитами и фагоцитирующими мононуклеарами. Изучение лимфоцитов из аксиального органа морской звезды Asterias rubens с помощью электронной микроскопии и иммунохимического анализа подтвердило морфологическую и гистохимическую идентичность этих клеток лимфоцитам млекопитающих. Имеется серия работ, выполненных во Франции М. Leclerc с сотрудниками, в которых исследователи пытаются доказать наличие в аксиальном органе двух самостоятельных популяций – Т- и В-лимфоцитов – на основании их дифференциальной адгезии на нейлоновой вате, реакции на митогены, разной способности к продукции антителоподобного, белкового фактора.

7.1.8. Оболочники (Tunicata)

Оболочники являются уникальной группой животных в силу своеобразия своего развития. В личиночной стадии животные обладают хордой. Однако во взрослом состоянии в результате метаморфоза хорда подвергается полной резорбции. Наличие личиночной хорды ставит оболочников в единый филогенетический ряд с позвоночными животными. В связи с подобной филогенетической общностью данный тип животных интересен и для понимания эволюции иммунитета как обладатель предсуществующей позвоночным системы специфической защиты.

Лимфоциты оболочников рассматриваются в качестве гомологов лимфоцитам позвоночных животных. Этот тип клеток, как и у позвоночных, чувствителен к облучению, отвечает на митогены Т-клеток, образует розетки с эритроцитами барана и обеспечивает отторжение трансплантата, инфильтруя пересаженную ткань.

Типичными клетками гемолимфы (около 70% от общего количества) являются вакуолизированные, содержащие ванадий клеточные формы. Их функция связана с переносом кислорода. Установлена также неспецифическая иммунологическая активность данных клеток, проявляющаяся в инкапсуляции инородных частиц, включая гетерологичные эритроциты. Способностью к фагоцитозу обладают многие клеточные формы: амебоциты, гиалиновые клетки, гранулоциты, макрофаги.

7.1.9. Позвоночные (Vertebrata)

Позвоночные в целом характеризуются завершенностью формирования макрофагально-лимфоцитарного клеточного комплекса. В сравнении с беспозвоночными усложнение клеточного состава комплекса у позвоночных касается в основном лимфоидных клеток. Причем оно не связано с появлением новых клеточных типов и обогащено лишь формированием функционально различных субпопуляций, в частности, в лимфоидном ряду развития.

У представителей подкласса миксин (Mixina) тимусподобные образования еще отсутствуют. Мононуклеарные клетки лимфоидного типа встречаются в крови, слизистой и подслизистой кишечного тракта и в пронефросе. Как и у всех беспозвоночных, у миксин гемопоэз топографически не отделен от лимфопоэза.

В другом более совершенном подклассе круглоротых – миног (Petromyzones), имеются лимфоидные скопления вокруг жаберных щелей. По мнению некоторых исследователей, подобные скопления есть прообраз тимуса. Наличие тимусподобного, зачаточного образования позволяет говорить о новом типе лимфоцитов – тимусзависимых клетках (Т-клетках), хотя вопрос о наличии данного типа клеток у этих животных продолжает обсуждаться.

Здесь необходимо сделать одно замечание. Лимфоциты с некоторыми функциональными и маркирующими свойствами Т-клеток появились в эволюции раньше возникновения примитивных позвоночных животных. Так, маркер Т-клеток млекопитающих – антиген Thy-1 – обнаружен на лейкоцитах дождевого червя Lumbricus terrestris. У колониальной туникаты Botryllus schlosseri на клеточной поверхности идентифицирован гетеродимер (α,β-цепи), напоминающий Т-клеточный антигенраспознающий рецептор млекопитающих. На основании дифференциальной адгезии на нейлоновой вате, реакции на соответствующие антисыворотки и ответа на митогены лимфоциты морской звезды A. rubens делят на две субпопуляции Т- и В-подобных клеток. Однако несмотря на то что налицо преадаптация определенной части клеток беспозвоночных к формированию Т-подобных лимфоцитов, говорить о возникновении Т-системы иммунитета у этих животных с определяющей эту систему Т-клеткой рано, так как еще не сформированы конкретные морфологические структуры данной системы.

С помощью электронной микроскопии в тифлозоле личинок миног (Endosphenus reissneri), гипериммунизированных эритроцитами барана, обнаружены: а) гранулоциты как преимущественные клеточные формы; б) макрофаги с первичными и вторичными лизосомами и длинными выростами цитоплазмы;

в) лимфоциты с характерным высоким ядерно-цитоплазматическим отношением; г) плазматические клетки, обладающие хорошо выраженными цистернами шероховатого эндоплазматического ретикулума, что позволяет говорить об активных биосинтетических процессах; д) эритроидные клетки.

Однако истинная эволюционная связь между лимфоцитами бесчелюстных (круглоротых) и всеми остальными челюстными позвоночными ставится под сомнение. Высказывается, например, мнение о морфологической конвергенции данных типов клеток у сравниваемых групп. О гомологии или аналогии между рассматриваемыми клетками можно говорить, имея данные о генетическом характере индивидуального клеточного развития.

Известно, что лимфоциты (Т- и В-клетки) происходят из плюрипотентной стволовой кроветворной клетки и в своем развитии проходят несколько последовательных этапов, каждый из которых генетически детерминирован и включает специфическую комбинацию транскрипционных факторов. Некоторые из них являются общими при дифференцировке различных типов клеток, в то время как другие ограничены главным образом развитием лимфоцитов. К последней категории относятся три родственных транскрипционных фактора: Spi-1 (PU.1), Spi-B и Spi-C. Было обнаружено, что Spi-B специфически представлен не только в лимфоцитах костных рыб, амфибий, рептилий, но и в лимфоцитах миног. Полученные молекулярно-генетические факты указывают на гомологию и эволюционную общность между лимфоцитами представителей сравниваемых таксонов.

Более чем столетний период изучения клеток лимфомиелоидного комплекса у рыб (Piesces) показал, что клеточный состав комплекса данного класса представлен наиболее полно и характерен для всех вышестоящих классов позвоночных животных, включая млекопитающих.

Лейкоциты крови рыб подразделяются на две основные группы: гранулоциты, включающие нейтрофилы, эозинофилы, базофилы, и агранулоциты, представленные моноцитами-макрофагами, большими, средними и малыми лимфоцитами, а также тромбоцитами.

В тканях внутренней среды млекопитающих отличают моноциты периферической крови и тканевые (резидентные) макрофаги. У рыб в большинстве случаев подобной градацией не пользуются. Моноциты-макрофаги рыб по морфологической характеристике не отличаются от данного типа клеток других животных и представляют собой крупные образования с эксцентрично расположенным бобовидным ядром. Содержание фагоцитирующих мононуклеаров в крови рыб незначительно и колеблется от 4 до 7% от общего количества клеток. Так же как и у других животных, макрофаги совместно с нейтрофилами обеспечивают неспецифическую иммунную защиту и принимают участие в воспалительных реакциях. В зоне воспаления макрофаги могут сливаться, образуя гигантские многоядерные клетки. Кроме того, фагоцитирующие мононуклеары рыб, как и млекопитающих, способны к презентации антигена, демонстрируя тем самым свое участие в процессах клеточного взаимодействия при формировании специфического иммунного ответа.

При работе с культурой клеток почки тихоокеанского лосося (Oncorhynchus mykiss) описана субпопуляция макрофагов, отличающихся от обычных фагоцитирующих мононуклеаров наличием меланиновых гранул. Функция меланомакрофагов не известна, хотя и установлена их связь с изменением числа Кон А- и ФГА-зависимых лимфоцитов.

В периферической крови рыб более 70% лейкоцитов представлено лимфоцитами. Популяция лимфоцитов функционально неоднородна. У хрящевых и костных рыб, как и у круглоротых, лимфоциты претерпевают дифференцировку до зрелых, иммуноглобулинпродуцирующих плазмоцитов – гистогенетических потомков В-клеток.

Подверглась функциональной дифференцировке и Т-клеточная популяция.

У костистых рыб описаны субпопуляции с Т-хелперной и Т-супрессорной активностью. Таким образом, лимфоидный клеточный комплекс рыб достаточно гетерогенен и фактически не отличим от такового наиболее высокоорганизованных позвоночных животных.

Именно на уровне круглоротых и рыб наблюдается определенная форма ароморфоза по Северцеву, когда лимфоидная система «поднимается» на более высокий уровень развития, приобретая как самостоятельные Т- и В-клеточные популяции, так и субпопуляции внутри определенного популяционного объединения клеток. Последующие классы позвоночных – амфибии, рептилии, птицы, млекопитающие – характеризуются скорее функциональным совершенствованием (идиоадаптацией) уже предсуществующих самостоятельных популяций и субпопуляций, чем приобретением новых. В частности, подобная идиоадаптация связана с клональной экспансией лимфоидного клеточного комплекса у представителей вышестоящих таксонов.

7.1.10. Натуральные киллеры (НК-клетки)

Особое место среди клеток лимфомиелоидного комплекса занимают натуральные киллерные клетки (НК-клетки). Как уже отмечалось (см. главу 1), данная популяция больших гранулярных лимфоцитов относится к категории неспецифических факторов защиты и осуществляет цитотоксическое разрушение чужеродных клеток без какой-либо специфической антигенной индукции. Гистогенетически эта популяция у млекопитающих связана, очевидно, с Т-клеточным ростком дифференцировки.

Изучение неспецифического клеточного лизиса клетками различных беспозвоночных и позвоночных животных показало широкое распространение этого явления в филогенетическом ряду.

Например, у беспозвоночных естественная клеточная цитотоксичность обнаружена у земляного червя (Lumbricus sp.), сипункулид (Sipunculus), морского ежа (Arbacia punctulata), асцидии (Ciona intestinalis). При изучении аллотрансплантационного отторжения у губок (Microciona prolifera) было сделано предположение, что разрушение аллогенных мишеней связано с НК-клетками. У позвоночных животных натуральные киллеры описаны у костистых рыб, амфибий, рептилий, птиц, млекопитающих.

7.2. Ткани и органы лимфомиелоидного комплекса

Имеется общее представление о том, что процесс роста, дифференцировки и функционального созревания клеток происходит более эффективно в условиях микроокружения определенных органов и тканей, чем при свободном пребывании в гуморальной среде. Подобные представления сформировались в результате

многочисленных исследований, показавших, что именно на территории органов создаются наиболее благоприятные условия для множественных, межклеточных взаимодействий прекурсорных, дифференцирующихся клеток со стромальным клеточным окружением, а также для наиболее прямого, короткодистантного воздействия гуморальных факторов дифференцировки.

Эти самые общие замечания определяют необходимость сравнительного рассмотрения вопроса о филогенетическом становлении не только иммунокомпетентных клеток, но также органов и тканей лимфомиелоидного комплекса с тем, чтобы представить эволюционные изменения иммунной системы в виде единого процесса.

7.2.1. Беспозвоночные

Очаги гемолимфопоэза как самостоятельные, морфологические образования являются эволюционным приобретением наиболее развитых беспозвоночных (табл. 7.1). Так, прогресс на уровне кольчатых червей проявился в том, что у представителей данного таксона впервые в филогенетической ветви первичноротых появляются лейкопоэтические «органы», которые служат местом клеточной дифференцировки. «Органы» представляют собой парные узелки, расположенные в целоме, вдоль кишки в каждом из сегментов и связанные с дорсальным кровеносным сосудом. В узелках представлено большинство типов целомоцитов, включая лимфоцитоподобные клетки. У тех видов, которые обладают узелками, лейкопоэз происходит в данных морфологических образованиях. У видов, не имеющих узелков, лейкопоэз осуществляется в целомической жидкости.

Таблица 7.1.

Лимфоцитоподобные, макрофагоподобные клетки и очаги гемопоэза у беспозвоночных животных

Таксон	Макрофагоподобные клетки	Лимфоциты и лимфоцитоподобные клетки	Очаги гемопоэза
Губки	Блуждающие амебоциты (археоциты)	–	–
Кишечнополостные	Блуждающие амебоциты	–	–
Немертины	Гиалиновые амебоциты	Лимфоцитоподобные амебоциты	–
Кольчатые черви	Гиалиновые амебоциты (нейтрофилы)	Лимфоцитоподобные клетки двух типов (базофилы)	Парные узелки в целоме, гемопоэтическая ткань в алиментарном кровяном синусе
Моллюски	Гиалиновые амебоциты	Лимфоцитоподобные клетки	Гемопоэтическая ткань целома. «Белое тело» головоногих моллюсков
Членистоногие	Плазматоциты	Прогемоциты	Гемопоэтические участки в различных частях тела

Таблица 7.1 (окончание).

Таксон	Макрофагоподобные клетки	Лимфоциты и лимфоцитоподобные клетки	Очаги гемопоэза
Иглокожие	Фагоцитирующие амебоциты	Лимфоциты	Аксиальный орган
Оболочники	Макрофаги	Лимфоциты	Лимфатические узелки в глоточной стенке, вокруг пищеварительного тракта, в стенках тела

Кроме лейкопоэтических «органов», локализованных в целоме, у представителей рода Lumbricus описан специализированный гемопоэтический «орган» в алиментарном кровяном синусе. Подобные же лимфомиелоидные образования, названные кровяными железами, описаны у некоторых видов родов Pheretima, Maoridrilus, Pontodrilus и др.

Хотя отмеченные морфологические структуры обнаружены лишь у определенного числа видов Annelides и не являются эволюционным достижением всего филума, тем не менее следует подчеркнуть, что на уровне кольчатых червей развивающаяся иммунная система обогащается важным эволюционным приобретением в виде сконцентрированной лимфогемопоэтической ткани, где локально происходят процессы клеточного созревания.

Гемопоэтическая ткань обнаружена также в типе членистоногих. У чешуйчатокрылых (Lepidoptera) выявлен двойной характер развития гемоцитов. Гранулоциты и сферические клетки вступают в митотическое деление в гемолимфе. В то же время прогемоциты (лимфоциты), плазматоциты (макрофаги) и оеноциты размножаются и созревают на территории гемопоэтических образований. После процесса дифференцировки зрелые клетки поступают в гемолимфу.

Большинство ракообразных (Crustacea) обладают гемопоэтическими образованиями, которые представляют собой компактные узелки, заключенные в тонкую оболочку соединительной ткани. У десятиногих раков узелки расположены вблизи глазной артерии, в основании рострума, в кишке с дорсальной и латеральной ее сторон.

У моллюсков (Mollusca), как и у кольчатых червей и членистоногих, обнаружены гемолимфомиелоидные структуры. Наличие гемопоэтической ткани или «органов» продемонстрировано у брюхоногих (Gastropoda) и двустворчатых (Bivalvia) моллюсков. Например, у брюхоногих моллюсков Lymnaea globrata и L. truncatula амебоцитпродуцирующий «орган» локализован во вторичной полости тела между перикардиумом и почкой. Инвазия личинок паразитического плоского червя Fasciola hepatica обусловливает усиление продукции амебоцитов этими «органами».

Представители наиболее совершенного класса моллюсков – головоногих (Cephalopoda) – обладают достаточно структурированной парной железой, получившей название «белое тело». Эта лимфоэпителиальная железа локализована в орбитальных впадинах головных хрящей (рис. 7.7). Медуллярная область железы содержит клеточные жгуты, предположительно включаюшие стволовые элементы. Каждый жгут отделен от соседнего синусоидами, через которые клетки после созревания покидают орган и выходят в циркуляцию. Первичные лейкобласты имеют ячеистое ядро и богатую РНК цитоплазму. После ряда делений образуются зрелые формы лейкоцитов, морфологически напоминающие моноциты позвоночных животных. По общей морфологии «белые тела» напоминают лимфоидные узлы позвоночных и выполняют, очевидно, ту же функцию.



Рис. 7.7. Диссекция осьминога Eledone cerrosa через 2 дня после внутривенной инъекции большой дозы туши

Лимфоидный орган – белое тело (2) – расположен непосредственно за глазом (1); 3 – задняя слюнная железа; 4 – печень; 5 – жабры; 6 – мантия; 7 – гонады

8. Заказ № 67.

У иглокожих (Echinodermata) местом образования лейкоцитов является осевой (аксиальный) орган, локализованный в центральном диске. Из этого органа фагоциты, гранулоциты, сферические, вибрирующие и кристаллические клетки проникают в сосудистую, кровеносную систему. Активность данных клеток возрастает при повреждении ткани животного или при инфекции.

С помощью электронной микроскопии и иммунохимического анализа изучена популяция клеток из аксиального органа морской звезды A. rubens. Среди клеток органа выделяются морфологически хорошо определяемые лимфоциты, визуально не отличающиеся от лимфоцитов млекопитающих.

7.2.2. Позвоночные

Взрывоподобный характер носит становление тканей и органов кроветворения и лимфопоэза у позвоночных животных (Vertebrata) (табл. 7.2).

Представители наиболее примитивного класса позвоночных животных — круглоротых (Cyxlostomata) — обладают относительно слабо развитыми лимфомиелоидными образованиями по сравнению с более совершенными представителями типа. У миксин (Mixini) еще отсутствует тимус, лимфоидные скопления наблюдаются в окологлоточной области, фолликулах вдоль кишки, примитивной селезенке, первичном пронефросе. Представители другого подкласса — миног (Petromyzones) — характеризуются приобретением нового лимфоидного образования — примитивного тимуса — скоплением лимфоидных клеток около жаберных щелей. Использование электронной микроскопии в дорсальной области жаберных карманов животных позволило описать малые лимфоциты, лимфобласты, макрофаги, стромальные элементы, контактирующие с лимфоцитами посредством длинных отростков, а также межклеточные волокнистые структуры. Помимо этой лимфоидной ткани, лимфомиелоидные образования представлены примитивным костным мозгом протопозвоночной дуги (жировым телом), зачаточной селезенкой, пронефросом, лимфоидными скоплениями слизистой и подслизистой кишечника.

Дальнейшего совершенства лимфомиелоидный комплекс достигает у хрящевых (Chondrichthyes) и костных (Osteichtyes) рыб. У рыб с хрящевым скелетом тимус представлен как компактный, хотя и слабо дифференцированный гистологически орган. Личинка ската (Rhynobatus productes) рождается с инкапсулированным тимусом. Орган достаточно структурирован и обладает корой и медуллой. Селезенка также заключена в капсулу и содержит красную и белую пульпы. Кроме этих лимфомиелоидных образований, лимфоидная ткань имеется в кишечнике (орган Лейдига), в паренхиме почек, в гонадах и вокруг главного кровеносного сосуда. У леопардовой акулы (Triakis semifascieta) и носатой акулы (Ginglymostoma cirrhatum) тимус не дифференцирован на кору и медуллу, как у скатов, но имеет эпителиальные скопления, напоминающие тельца Гассаля, столь характерные для млекопитающих. Отмечается, что тимус этих акул, по-видимому, не подвержен возрастной инволюции, что отличает его от тимуса более высокоорганизованных позвоночных животных.

Таблица 7.2.

Лимфомиелоидные органы и ткаии у позвоночных животных

Таксономическая группа	Органы, ткани
Млекопитающие	
Настоящие звери	Тимус, костный мозг, селезенка, лимфатические узлы, миндалины, лимфоидная ткань кишечника
Птицы	
Настоящие птицы	Тимус, костный мозг, сумка Фабрициуса, подкожные и кишечные узелки, железа Гардера, селезенка
Рептилии	
Крокодилы	Тимус, селезенка, бурса, глоточные узлы, лимфоидная ткань кишечника и другие образования
Черепахи	Тимус, костный мозг, селезенка, миндалины, бурса, лимфоидная ткань кишечника
Чешуйчатые	Тимус, селезенка, миндалины, лимфоидная ткань кишечника
Амфибии	
Бесхвостые	Тимус, костный мозг, югулярные, прокоракоидные, проперикардиальные, эпителиальные тела, селезенка, миндалины, почки
Хвостатые	Тимус, костный мозг, селезенка, лимфоидная ткань кишечника, печени, почек
Безногие	Тимус, селезенка, лимфоидная ткань печени, почек
Костные рыбы	
Двоякодышащие рыбы	Тимус (?), селезенка, лимфоидная ткань кишечника, другие образования
Костистые рыбы	Тимус, селезенка, пронефрос и другие образования
Костно-хрящевые рыбы	Тимус, селезенка, околосердечная лимфомиелоидная ткань, лимфоидная ткань кишечника
Хрящевые рыбы	
Химеровые	Тимус, селезенка и другие образования (?)
Скаты	Тимус, селезенка, лимфоидная ткань кишечника, почек, гонад
Акулы	Тимус, селезенка, лимфоидная ткань кишечника, почек, гонад
Круглоротые	
Миноги	Тимус (?), примитивный костный мозг, селезенка
Миксины	Слизистая, подслизистая кишечника, пронефрос

Изучение онтогенетического развития лимфомиелоидного комплекса у кошачьей акулы Scylorhinus canicula показало, что печень является первым органом, в котором через два месяца развития регистрируются клетки, синтезирующие иммуноглобулин. Через три месяца формируется почка как лимфомиелоидное образование, через четыре месяца – тимус, селезенка и орган Лейдега. Эпигональная и ассоциированная с кишечником лимфоидная ткань возникает позднее. Какой-либо значимой инволюции лимфомиелоидной ткани в течение жизни не наблюдается.

У рыб с костным скелетом гистологическое строение тимуса и селезенки напоминает гистологическое строение этих органов у млекопитающих. Так, у веслоноса (Polyodon spatula), относящегося к отряду осетровообразных, описан структурированный, дольчатый тимус с характерными тельцами Гассаля. В селезенке обнаружены хорошо выявляемые зоны белой и красной пульпы, вокруг илиоцекального клапана представлены лимфоидные скопления. Описаны различные стадии дифференцировки клеток лимфоидной ткани, локализованной около предсердия и желудочка. Узелковые лимфоидные образования в перикардии подразделяются прослойками соединительной ткани на маленькие компартменты, содержащие ретикулярные клетки, гранулоциты, малые и большие лимфоциты, макрофаги. В целом гистологическое строение этих структур напоминает лимфатические узлы млекопитающих. Помимо перечисленных лимфомиелоидных образований, осетровые имеют в полостях черепа так называемую менингиальную ткань, гистологическое строение которой сходно с костным мозгом млекопитающих. В строме ткани, составленной из тонкой ретикулярной сети, жировых клеток и макрофагов, экстраваскулярно идут процессы эритропоэза, гранулоцитопоэза, лимфопоэза. В ткани много бластных форм и митотически делящихся клеток (Ланге, личное сообщение).

Среди рыб наибольшего эволюционного успеха достигли настоящие костистые рыбы (Teleostei). Однако их лимфомиелоидный комплекс сходен с подобным комплексом хрящевых и осетровых рыб. Костистые рыбы имеют тимус, селезенку, прои мезонефрос, лимфоидные образования слизистой и подслизистой кишечника.

Тимус имеет корковую зону и медуллу, представленную большими лимфоцитами и эпителиальными клетками. В результате иммунизации наблюдается резкое увеличение органа, меняющееся в конце иммунного ответа нормализацией или даже некоторой инволюцией железы за счет уменьшения количества больших лимфоцитов медуллярного слоя. Помимо набора лимфоидных клеток различного морфологического типа, в тимусе костистых рыб встречаются тучные клетки, локализованные обычно вокруг кровеносных сосудов. В капсуле и септах органа обнаружены гранулоциты, полиморфноядерные клетки, макрофаги.

Главным органом гемолимфопоэза, как и у других эволюционно менее развитых таксонов класса, являются почки. Строма органа сформирована двумя основными типами клеток: ретикулоцитами, имеющими разнообразную, неправильную форму с многочисленными выростами, и фиксированными тканевыми макрофагами. Эти типы клеток образуют каркас для кроветворных и лимфоидных элементов. В почках костистых рыб описаны все ростки лимфомиелоидной дифференцировки: эритроидный, макрофагальный, тромбоцитарный, лимфоидный. Лимфогемопоэтическая ткань почек организована в тяжи и пластины и локализуется между синусами кровеносных сосудов органа. Строго территориального распределения клеток различных рядов дифференцировки не наблюдается, хотя лимфоциты и макрофаги образуют локальные скопления, которые классифицируют как белую пульпу почек.

Селезенка костистых рыб, очевидно, не является органом активного лимфопоэза. Имеющиеся лимфоциты не организованы в фолликулы, а их количество непостоянно.

Переход от водного образа жизни к наземному сопровождался многими адаптационными событиями. Среди прочих – развитие конечностей с трубчатыми

костями. Подобное эволюционное приобретение имело существенное значение для совершенствования специфического иммунитета, так как именно костному мозгу суждено было стать основным источником стволовых элементов лимфомиелопоэза наземных позвоночных животных. Кроме того, освоение воздушной среды приводило к неизбежным контактам вышедших на сушу животных с новыми, неизвестными ранее микроорганизмами, что само по себе должно было стимулировать дальнейшее развитие иммунной системы.

У амфибий иммунная система усиливается включением в работу костного мозга, печени, вторичных лимфоидных узелков. Представители отряда безногих амфибий (Apoda) имеют лимфоидную систему, в целом сходную с костистыми рыбами. Однако у них есть дополнение в виде лимфомиелоидной ткани печени. У хвостатых (Urodela) и бесхвостых (Anura) амфибий представлена функционирующая костномозговая ткань, содержащая плазматические клетки и выполняющая функцию поставщика стволовых кроветворных элементов для формирования Т- и В-клеточных популяций. Впервые в онтогенезе стволовые предшественники для Т- и В-лимфоцитов обнаруживаются в вентральных кровяных островках мезодермы.

Селезенка амфибий имеет слоистое строение с чередованием белой и красной пульпы. Причем у безногих и хвостатых амфибий слой белой пульпы непосредственно прилегает к красной пульпе без каких-либо разделяющих образований. В то же время у бесхвостых амфибий красная и белая пульпа разделены слоем ретикулярных клеток.

Вдоль яремных вен у жаб обнаружены примитивные лимфатические узлы (югулярные тела). После антигенной стимуляции в подушечку лап формируются преходящие лимфатические узлы в подколенной области. У некоторые видов лягушек лимфатические железы, включаюшие макрофаги, регистрируются вблизи развиваюшихся конечностей головастиков. Описана также лимфоидная ткань, ассоциированная с двенадцатиперстной кишкой, тонким кишечником и клоакой. Во всех этих лимфоидных образованиях в разном процентном соотношении представлены как Т-, так и В-клетки (Ig^-- и Ig^+-лимфоциты).

Дальнейший морфологический прогресс в эволюции иммунной системы связан с классом рептилий (Reptilia). Лимфомиелоидный комплекс рептилий включает хорошо организованный тимус, селезенку, малые лимфатические узлы, лимфоидную ткань кишечника, лимфоидные агрегаты в клоаке. У представителей двух отрядов (крокодилы – Crocodilia и черепахи – Testudines) описаны глоточные миндалины. Своеобразное лимфоидное образование описано у геккона Gehyra variegata – осевая лимфоидная ткань, связанная с грудиной и пронизанная лимфатическими и кровеносными сосудами. Одно из новшеств комплекса – это расхождение клеточного потока по самостоятельным лимфатическим и кровеносным путям. Обмен лимфоцитами между кровью и лимфой происходит посредством диапетеза в осевых синусах, окружающих вены. В тимусе, селезенке, крови содержится определенное количество Т- и В-клеток, процентное содержание которых колеблется в зависимости от сезона.

У птиц имеется многодольчатый, хорошо структурированный тимус, расположенный вдоль яремных вен. В белой пульпе селезенки представлены центры размножения, где осуществляется дифференцировка лимфоцитов от прекурсорных клеток. Сам факт присутствия четко определяемых гистологических центров размножения свидетельствует о напряженной функциональной актив-

ности лимфоидной ткани в целом. В весенне-летнее время у птиц легко выявляются подкожные лимфатические узлы. Они так же, как и узелковые образования кишечника, имеют афферентные и эфферентные сосуды, медуллярную зону и центры размножения. Типичными для птиц являются два морфологических образования: железа Гардериана и сумка Фабрициуса. Первый орган расположен дорсально по отношению к глазному яблоку, второй – локализован в клоаке. Железа Гардериана – активный в иммунологическом отношении орган, который содержит ретикулоциты, эпителиальные клетки, дендритные клетки, макрофаги, Т-, В-лимфоциты и плазматические клетки, синтезирующие иммуноглобулины. Железа имеет центры размножения, увеличивается с возрастом и характеризуется истощением пиронинофильных клеток при химической бурсэктомии. Сумка Фабрициуса является местом генерации В-клеток, и удаление этого органа приводит к резкому или полному подавлению антителопродукции. Клеточный состав органа не отличим от железы Гардериана. Основной состав клеток в сумке Фабрициуса к моменту рождения представлен В-лимфоцитами (до 75%).

Млекопитающие (Mammalia) представляют собой класс, в котором воплощен исторический опыт формирования иммунной системы защиты. Для млекопитающих характерна разветвленная сеть обособленных, хорошо структурированных морфологических образований, включающих тимус, костный мозг (первичные органы иммунитета), а также селезенку, пейеровы бляшки кишечника, миндалины, лимфатические узлы с Т- и В-зонами (вторичные органы иммунитета). Наличие афферентных и эфферентных лимфатических сосудов обеспечивает миграцию и широкий обмен клетками между органами и кровеносной системой. Так же как и у нижестоящих в филогенетическом отношении классов животных, млекопитающие имеют органы со смешанным лимфомиелопоэзом (костный мозг, селезенка) и органы, где осуществляется только лимфопоэз (тимус, лимфатические узлы, лимфоидная ткань кишечника).

* * *

Итак, если посмотреть на известные факты о становлении клеток, тканей и органов иммунной системы в филогенетическом ряду, то можно выделить по крайней мере две линии развития, два эволюционных этапа. Первый из них связан с появлением лимфоцитоподобных клеток (включая в эту категорию как собственно лимфоциты, так и клетки с НК-активностью). Эта линия развития шла от первичных одноклеточных с их фагоцитарной активностью через блуждающие амебоциты губок, кишечнополостных к лимфоцитоподобным клеткам немертин, кольчатых червей, моллюсков, членистоногих и лимфоцитам иглокожих, оболочников, позвоночных.

Вторая линия развития связана с появлением гемопоэтической ткани и органов. Впервые такая ткань обнаруживается у кольчатых червей. Завершающим событием этой линии развития является появление у позвоночных животных самостоятельных, отделенных от миелопоэза, лимфоидных органов.

Подробно об этих эволюционных событиях будет рассказано далее, после рассмотрения данных о функциональных особенностях клеток, принимающих участие в иммунологических событиях.

Глава 8. ЭВОЛЮЦИЯ ТРАНСПЛАНТАЦИОННОГО ИММУНИТЕТА

Познание проблем эволюции иммунитета невозможно без сравнительного изучения явлений, объединенных общим понятием — трансплантационный иммунитет. По определению трансплантационный иммунитет есть специфическая реакция организма на генетически отличающийся материал, проявляющаяся в отторжении неродственных структур и в создании иммунологической памяти от первичного контакта с чужеродностью. Констатация факта специфической реакции на трансплантационные антигены у представителей того или иного таксона позволяет говорить о филогенетическом уровне, начиная с которого проявляется специфическая форма иммунной защиты.

Как отмечалось выше (см. гл. 5), общая реакция отторжения трансплантата многогранна и включает как клеточные, так и гуморальные механизмы. Ясно, что такой комплексный реактивный процесс отторжения чужеродной ткани, хорошо изученный у млекопитающих, не возник вдруг, а сформировался в результате длительного исторического развития. Понять причины и движущие силы, приведшие к становлению сложных реакций отторжения, — одна из основных задач эволюционной иммунологии. Главные вопросы, которые решаются в рассматриваемой проблеме, связаны с пониманием молекулярно-генетической основы специфического, истинно иммунного распознавания чужеродности, становления механизмов дискриминации «чужого» и определения уровня, начиная с которого действуют механизмы иммунного распознавания. И, наконец, что является самым существенным, — это понять силы, обеспечившие возникновение и совершенствование специфического иммунного реагирования.

8.1. Сравнительная феноменология трансплантационного иммунитета

Внутри- и межвидовые пересадки органелл, клеток, органов и тканей как методический прием в цитологии, генетике, физиологии, экспериментальной хирургии используются достаточно давно, начиная с начала XIX в. Однако только в 50-х годах XX столетия трансплантология из области технологии переходит в сферу самостоятельного научного направления, впитав в себя в первую очередь достижения таких дисциплин, как иммунология и генетика.

Особое место занимает проблема эволюции трансплантационного иммунитета. В рамках этой проблемы важно найти ответы на вопросы:

1. С какого филогенетического уровня возникла способность к специфическому, истинно иммунному распознаванию чужеродного антигенного материала?

2. Каковы конкретные клеточные механизмы, действующие в реакции отторжения чужеродного материала?

3. Являются ли клетки, участвующие в отторжении трансплантата у разных филогенетических групп (имеются в виду в первую очередь беспозвоночные и позвоночные животные), гомологами или аналогами по отношению друг к другу?

8.1.1. Простейшие

Явления несовместимости при внутриклеточных трансплантациях органелл описаны для ряда одноклеточных животных. Так, взаимная пересадка ядер между амебами двух видов – Amoeba discoides и A. proteus – в большинстве случаев приводит к гибели ксеногенных химер. В то же время трансплантация ядер между особями внутри вида не отражается на жизнеспособности химерных клеток.

У ресничных инфузорий Stentor sp. пересадка ядер между особями различных рас (аллотрансплантация) не нарушает жизнедеятельности одноклеточных животных. Межвидовые трансплантации (Stentor coeruleus ↔ St. polymophus) приводят к значительным физиологическим нарушениям.

Несовместимость на внутриклеточном уровне говорит о том, что уже простейшие, каковыми являются амебы и инфузории, проявляют способность дифференцировать «свое» от «чужого». Однако называть это явление иммунологическим неправомочно, поскольку феномен специфического иммунитета включает не только распознавание чужеродности, но и формирование памяти от первичного контакта с чужеродным, антигенным материалом.

8.1.2. Губки и кишечнополостные

Эти два типа представляют собой наиболее просто организованных многоклеточных. Губки (Porifera) сформировали боковую ветвь от основного ствола филогенетического древа. По мнению многих зоологов-эволюционистов, все разнообразие многоклеточных (Metazoa) следует делить на два надраздела: Parazoa с единственным типом губок и Eumetazoa, включающим все остальные типы. Подобное деление обусловлено тем, что губки, являясь многоклеточными, не обладают еще истинными тканевыми образованиями в отличие от всех других животных. Кишечнополостные (Coelenterata) – самые примитивные среди Metazoa. У них представлено только два типа тканей: экто- и мезодерма (см. рис. В.1).

Способность к самораспознаванию у губок продемонстрировано достаточно давно. В одной из работ, посвященной этой проблеме, смешанные, диссоциированные клетки двух видов – Microciona proliferata (клетки красного цвета) и Cliona celata (клетки желтого цвета) – были способны к специфической видовой агрегации так, что красные и желтые клетки образовывали самостоятельные конгломераты. Антитела к клеткам того или иного вида препятствовали агрегации только соответствующих по специфичности клеток.

В 70-х годах прошлого века был сделан следующий шаг. Исследователи с анализа на уровне межвидовых отношений перешли на изучение процессов внутривидовой (аллогенной) несовместимости (табл. 8.1).

Так, было показано, что при контакте отростков разных особей одного и того же вида Ephydatia fluviatilis не происходит слияния аллогенного отростка с реципиентом. В зоне контакта формируется «цементный» (коллагеноподобный) слой (рис. 8.1). В то же время аутологичный контакт приводит к полному объединению партнеров по трансплантации. При аллогенной трансплантации ветвей другого вида губок – Axinella polypoides – реакция несовместимости носит иной, физиологически более активный характер и проявляется в развитии зоны некроза в месте контакта. В этих исследованиях не удалось установить ускоренного отторжения вторичного транс-

плантата, что указывает на отсутствие способности данных видов к созданию иммунологической памяти и, следовательно, на наличие каких-либо форм специфического иммунитета. При специальном сравнительном исследовании у четырех видов пресноводных губок (Ephydatia fluviatilis, Eph. mulleri, Spongilla lacustris, Eunapius gragilis) была уточнена динамика отторжения. Процесс включал три этапа: 1) слияние контактирующих губок; 2) локальную клеточную аккумуляцию; 3) разделение (некроз или образование «цементного» слоя) неродственных организмов. Выраженность реакции аллонесовместимости варьировала в значительных пределах и зависела от видовой принадлежности губок. В ряде случаев истинного аллоотторжения не наблюдалось и контакт между аллогенными парами сохранялся. Напротив, реакция при ксенотрансплантации, включающая все этапы аллоотторжения, развивалась всегда эффективно и обеспечивала полное разделение парабионтов.

Кроме упомянутых видов, аллотрансплантационная несовместимость описана для Axinella mexicana и Cyamon argus, которые также не способны формировать память. При работе с губками Hymeniacidon sinapium, собранными в водах Южной Калифорнии, проводили анализ отторжения аллогенной ткани от губок, полученных из других районов акватории. В большинстве случаев в зоне пересадки наблюдали некроз тканей. Реже между донорской тканью и реципиентом образовывалось подобие фиброзной ткани. Низкая температура содержания губок снижала скорость отторжения ткани. Повторная трансплантация от того же донора не обеспечивала ускоренного отторжения.

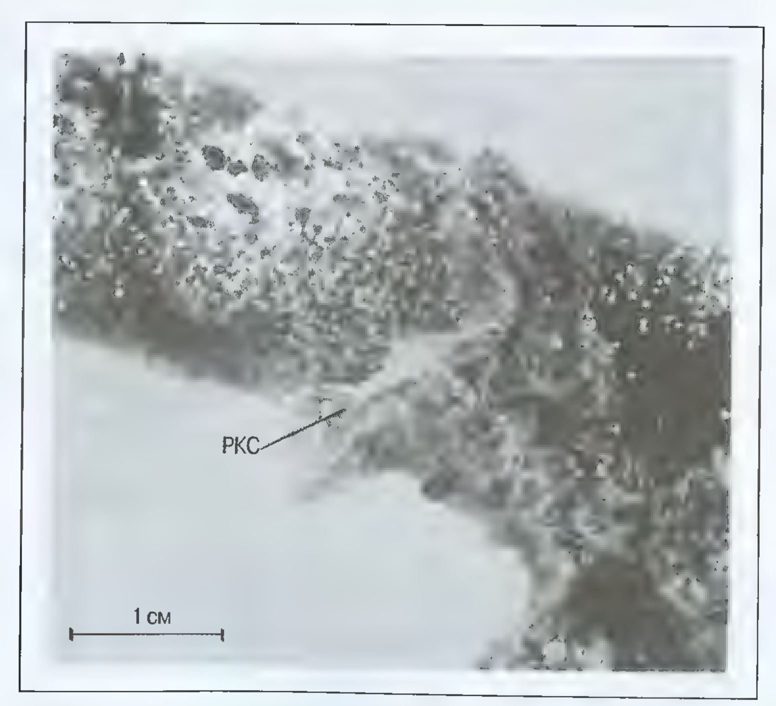


Рис. 8.1. Образование разделительного коллагеноподобного слоя (РКС) при формировании реакции аллогенного отторжения между отростками двух линий пресноводной губки Ephydatia fluviatilis

Таблица 8.1.

Временны́е параметры и особенности отторжения алло(ксено)трансплантатов у животных различных типов

Тип, класс	Вид	Алло-, ксено-трансплантат	Время выживания, дни		Форма отторжения
			Первичный трансплантат	Вторичный трансплантат	
Губки	Ephydatia fluviatilis	Ал.	–	–	Образование коллагеноподобного слоя
	Axinella polypoides	Ал.	–	–	Образование зоны некроза
	Ephydatia fluviatilis, Eph. mulleri, Spongilla lacustris, Eunapius fragilis	Кс.	–	–	То же
	Hymeniacidon sinapium	Ал.	–	–	»
	Callispongia diffusa	Ал.	11,3	7,0	»
	Xestospongia exigus	Ал.	8,2	3,2	»
	Hymeniacidon perleve	Ал.	10,4	7,0	»
Кишечнополостные	Hydractinia echinata	Ал.	–	–	Гиперпластический рост
	Anthopleura elegantissima, Anth. krebsi, Leptogorgia vitgulata	Ал., Кс.	–	–	Гиперпластический рост или образование зоны некроза
	Eunicella stricta, Lophogorgia sarmentosa	Ал., Кс.	–	–	Образование зоны некроза
	Montipora verrucosa	Ал.	22,0	11,6	То же
Немертины	Lineus sanguineus → L. ruber	Кс.	15,4	8,6	Образование зоны некроза, депигментация ткани
	L. ruber → L. sanguineus	Кс.	16,4	8,6	То же
Членистоногие	Blamberus giganteus → Periplaneta americana	Кс.	>3	–	Инкапсуляция
Иглокожие	Cucumaria tricolor	Ал.	129–185	≈50	Образование зоны некроза, депигментация ткани
	Dermasterias imbricata	Ал.	–	–	То же
	Strongylocentrotus droebachiensis	Ал.	30	12	»
Оболочники	Styela plicata	Ал.	38	28	»

Таблица 8.1 (окончание).

Тип, класс	Вид	Алло-, ксено-трансплантат	Время выживания, дни		Форма отторжения
			Первичный трансплантат	Вторичный трансплантат	
Позвоночные					
Круглоротые	Eptatreus stoutii	Ал.	72	28	»
	Petromyson marinus	Ал.	38	18	»
Хрящевые рыбы	Dasyatus americana	Ал.	31	12	»
	Heterodontis francisci	Ал.	41,1	16,7	»
Костные рыбы	Polyodon spathula	Ал.	42,7	12	»
	Lepisosteus platyrhincus	Ал.	18	–	»
	Osteoglossum bicirrhosum	Ал.	17,9	5,1	»
	Carassius auratus	Ал.	7,2	4,7	»
	Cyprinus carpio	Ал.	7,5	4,1	»
	Asquidens latifrons	Ал.	7,2	4,5	»
	Cymatogaster sp.	Ал.	5,8	4	»
	Fundulus sp.	Ал.	3,5	2	»
Амфибии	Diemictylus viridescens	Ал.	40	–	»
	Typhlonectes compressicauda	Ал.	21–161	42–78	»
	Bombina bombina	Ал.	50–65	17–30	»
	Bufo bufo	Ал.	51	–	»
	Xenopus laevis	Ал.	21	–	»
Пресмыкающиеся	Chelidra serpentina	Ал.	47,3	25,4	»
	Chrysemys picta → Chelidra serpentina	Кс.	26,3	17,4	»
	Emys blandingii → Ch. serpentina	Кс.	24,8	15,6	»
	Anolis carolinensis	Ал.	60–90	–	»
	Chemidophorus sexlineatus	Ал.	26	–	»
	Ctenosaura pectinata	Ал.	48–87	30–86	»
	Calotes versicolor	Ал.	60–80	–	»
	Xanthusia virgilus	Ал.	21–245	–	»
	Thramnophis sirtalis	Ал.	41	25	»
	Caiman sclerops	Ал.	65	–	–
	Chalcides ocellatus	Ал.	28,8	–	–

Примечание. Ал. – аллотрансплантат, Кс. – ксенотрансплантат.

Неожиданными и вызвавшими большой научный интерес явились опыты W.H. Hildemann (США), проведенные в конце 70-х годов прошлого столетия с гавайской губкой Callispongia diffusa. Аутотрансплантаты у данного вида постоянно срастались. В то же время между аллогенными контактирующими тканями формировалась зона некроза. Через 4—5 дней после трансплантации она достигала 1 мм. Среднее время отторжения равнялось 11,3 дням. Самое важное состоит в том, что пересадка вторичного трансплантата парабионту приводила к ускоренному отторжению такого трансплантата — приблизительно за 7 дней. Эти факты явились прямой демонстрацией формирования иммунологической памяти у изученного вида.

Аллоиммунная память обнаружена и у другого вида губок — Xestospongia exigue. Экземпляры для исследования собирали из двух удаленных друг от друга районов акватории Тихого океана. Уже через два дня после пересадки у части особей наблюдалась цитотоксическая реакция на аллотрансплантат, которая достигала максимума к 6-му дню. Среднее время выживания первичного аллотрансплантата составило 8,2 дня, вторичного — 3,2 дня.

Ускоренное отторжение вторичного аллотрансплантата установлено также у губки Hymeniacidon perleve из вод западного побережья Шотландии. Первичный трансплантат отторгался в среднем за 10,4 дня с интервалом в реактивности индивидуальных парабионтов 7—17 дней, вторичный трансплантат отторгался быстрее — за 4—14 дней. В зоне отторжения наблюдался лизис тканей.

Среди кишечнополостных убедительные доказательства аллогенной несовместимости при контролируемых лабораторных условиях получены при работе с колониальными гидроидами Hydractinia echinata и коралловых полипов: Anthopleura elegantissima, A. krebsi, Leptogorgia virgulata, Lophogorgia sarmentosa, Eunicella stricta.

Работа с колониальными видами кишечнополостных удобна, так как позволяет отдифференцировать в наиболее наглядной форме изо(ауто)трансплантацию (пересадка внутри одной колонии) от аллотрансплантации (пересадка между разными колониями того же вида). При аллогенном переносе реакция несовместимости проявляется либо в лизисе контактирующих клеток аллотрансплантата (рис. 8.2), либо в образовании гипербластического столона при отсутствии слияния трансплантационных партнеров. Реакция несовместимости при межвидовых переносах носит более выраженный характер по сравнению с аллогенной трансплантацией. Формирование иммунологической памяти у перечисленных выше видов не наблюдалось.

Однако в акватории Гавайских островов обнаружен один вид кораллов — Montipora verrucosa, который демонстрировал формирование иммунологической памяти. У аллогенных парабионтов в месте контакта неродственных тканей развивалась зона некроза, достигавшая максимума к 22-му дню. Вторичный трансплантат от той же самой донорской колонии, подсаженный через две недели после отторжения первичного трансплантата, отторгался в два раза быстрее — в среднем за 11,6 дня. При пересадке вторичного трансплантата через 4 недели после первичной трансплантации наблюдалось снижение эффективности вторичной реакции до 15,3 дня. Ускоренного отторжения вообще не было, если повторная пересадка осуществлялась через 8—16 недель. Авторы исследования (Hildemann et al.) считают, что временны́е параметры отторжения вторичного трансплантата есть проявление формирования кратковременной иммунологиче-



Рис. 8.2. Образование зоны некроза (ЗН) при формировании аллогенного отторжения между ветвями разных колоний горгониевого коралла Lophogorgia sarmentosa

ской памяти у данного вида кораллов. Возможно, кратковременность памяти от первичного контакта с аллогенным материалом связана с незначительной продолжительностью жизни клеток, осуществляющих иммунологический надзор у Montipora verrucosa.

8.1.3. Немертины

Немертины образуют самостоятельный тип животных, включенный в надтип низших червей. Основной характеристикой этих животных является отсутствие вторичной полости тела, хотя они в отличие от кишечнополостных развиваются из трех зародышевых листков и мезодерма определяет формирование тканей внутренней среды организма, столь существенной в становлении иммунной системы.

У немертин рода Lineus аутологичные и аллогенные трансплантаты приживаются, ксенотрансплантаты отторгаются. В качестве трансплантируемого материала брали переднюю, головную часть тела, которую подсаживали на соответствующий участок тела реципиента. Реакция тканевого отторжения проявляется в депигментации клеток, набухании трансплантата, формировании зоны некроза в месте контакта с чужеродной тканью. Время отторжения ксенотрансплантата варьировало в зависимости от видовой принадлежности пары донор–реципиент.

Так, в паре L. ruber → L. lacteus отторжение происходило за 45 дней, в реципрокном сочетании L. lacteus → L. ruber – за 12 дней. В результате первичной встречи с чужеродным материалом возникает иммунологическая память. При формировании химеры L. sanguineus → L. ruber отторжение первичного трансплантата осуществляется за 15,4 дня, вторичного – за 8,6 дня.

8.1.4. Кольчатые черви

Тип кольчатых червей объединяет сегментированных, первичноротых беспозвоночных, имеющих вторичную, разделенную перегородками полость тела. Как в крови, так и в целоме представлен идентичный набор клеток, принимающих участие в иммунологических реакциях защиты. Основными объектами трансплантационных исследований явились два вида сем. Lumbricidae: Lumbricus terrestris и Eisenia foetida.

В середине 1960-х годов, когда господствовало мнение об отсутствии какой-либо формы специфического иммунитета у всех без исключения беспозвоночных, три исследователя – Valembois (1963), Duprat (1964) и Cooper (1965) – показали, что представители сем. Lumbricidae способны к специфическому распознаванию чужеродного трансплантата и созданию иммунологической памяти. Эксперименты проводили с кусочками покровных тканей. Аутологичная ткань полностью срасталась с тканью хозяина. В то же время при алло- или ксенотрансплантации регистрировались депигментация клеток пересаженной ткани, ее набухание и в итоге – отмирание трансплантата. При работе с E. foetida установлено, что первичный аллотрансплантат отторгается в хронической форме с временными колебаниями в пределах 15–225 дней. Максимальная продолжительность жизни вторичного трансплантата – 70 дней. Однако реакция несовместимости не носит всеобщего характера и развивается лишь в 25% случаев. Процент отторжения аллотрансплантата у червей одной популяции достаточно низок. Эта величина значительно увеличивается, когда трансплантационные партнеры состоят из особей, принадлежащих к географически удаленным популяциям. Объяснение, которое дается этим результатам, основано на представлениях о генетической структуре популяций. Особи одной и той же популяции в силу внутрипопуляционного инбридинга генетически более гомогенны, чем особи разных популяций. Подобная генетическая мозаичность, а следовательно, и аллоантигенная неоднородность являются причиной разной степени несовместимости на внутри- и межпопуляционном уровнях.

Межвидовая трансплантационная реакция в сем. Lumbricidae имеет более острый характер. Трансплантат от E. foetida отторгался хозяином L. terrestris приблизительно за 40 дней. Вторичный ксенотрансплантат погибал быстрее. При этом формирование памяти регистрировали не во всех случаях: 60% реципиентов формировали достаточно выраженную иммунологическую память, у 30% – память имела слабый характер и у 10% – память отсутствовала. Повышение температуры содержания животных с 15 до 20 °C приводило к активизации процессов отторжения: время выживания первичного трансплантата сокращалось до 25 дней, а формирование иммунологической памяти наблюдалось у всех взятых в эксперимент животных.

Таким образом, представители сем. Lumbricidae способны, как и представители отмеченных выше таксонов, к алло- и ксеноспецифическому распознаванию и формированию иммунологической памяти, хотя и первичный и вторичный им-

мунологические процессы не всегда проявляются в достаточной степени. Тем не менее можно с полной уверенностью утверждать, что на уровне кольчатых червей существует инструмент специфического распознавания чужеродности, способность отличать «свое» от «чужого». Более того, зависимость реакции отторжения от температурных воздействий указывает на то, что процесс, реализующий ответ на чужеродность, носит активный характер и подвержен регуляторным влияниям.

8.1.5. Иглокожие и оболочники

Иглокожие и оболочники представляют собой два самостоятельных типа высших беспозвоночных, относящихся в филогенетическом древе к мощной ветви вторичноротых. Прямая филогенетическая связь этих типов с позвоночными животными определяет важность изучения их специфического иммунитета как предвестника наиболее совершенной формы иммунной защиты, свойственной млекопитающим.

Доказательства специфического аллотрансплантационного иммунитета с формированием кратковременной иммунологической памяти в типе иглокожих получены при работе с морским огурцом Cucumaria tricolor — обитателем тропической зоны Тихого океана. Как и для многих других беспозвоночных, визуальным критерием отторжения является депигментация клеток пересаженной ткани. Первичный аллотрансплантат у данного вида животных отторгается в хронической форме за 129—185 дней. Вторичное отторжение происходит эффективнее — приблизительно за 60 дней, демонстрируя тем самым способность морского огурца формировать иммунологическую память.

Проведено изучение времени отторжения первичного, вторичного и третичного аллотрансплантатов у морской звезды Dermasterias imbricata. Пересадка каждого последующего трансплантата проводилась через неделю после полного разрушения предыдущего. Показано, что первичный аллотрансплантат отторгается в хронической форме в среднем за 213 дней с интервалом 170—266 дней, вторичный — за 44,2 дня (интервал 18—110 дней), третичный — за 8 дней. Данное исследование ясно демонстрирует наличие специфического иммунного ответа на чужеродность у морской звезды и способность к формированию иммунологической памяти (рис. 8.3).

Третий представитель типа иглокожих — морской еж Strogylocentrotus droebachiensis — также способен к аллоиммунному распознаванию и формированию памяти. Первичный аллотрансплантат у этих животных отторгается приблизительно за 30 дней, вторичный быстрее — за 12 дней.

В типе оболочников специфическое отторжение аллотрансплантата обнаружено как у одиночных, так и колониальных форм. У Botryllus schlosseri в ситуации, когда генетически отличаюшиеся колонии приводят в прямой контакт, наблюдается либо отторжение неродственных особей с некрозом контактирующих поверхностей, либо их слияние. Однако в результате такого объединения физиологически стойкого химеризма не возникает и один из партнеров в химере подвергается резорбции. В то же время генетически идентичные особи, пришедшие в контакт, сливаются, образуя единый организм. Подобное объединение в природных условиях описано, например, для одиночного оболочника Styela plicata. Частота слившихся пар в популяции небольшая и составляет около 0,08%.

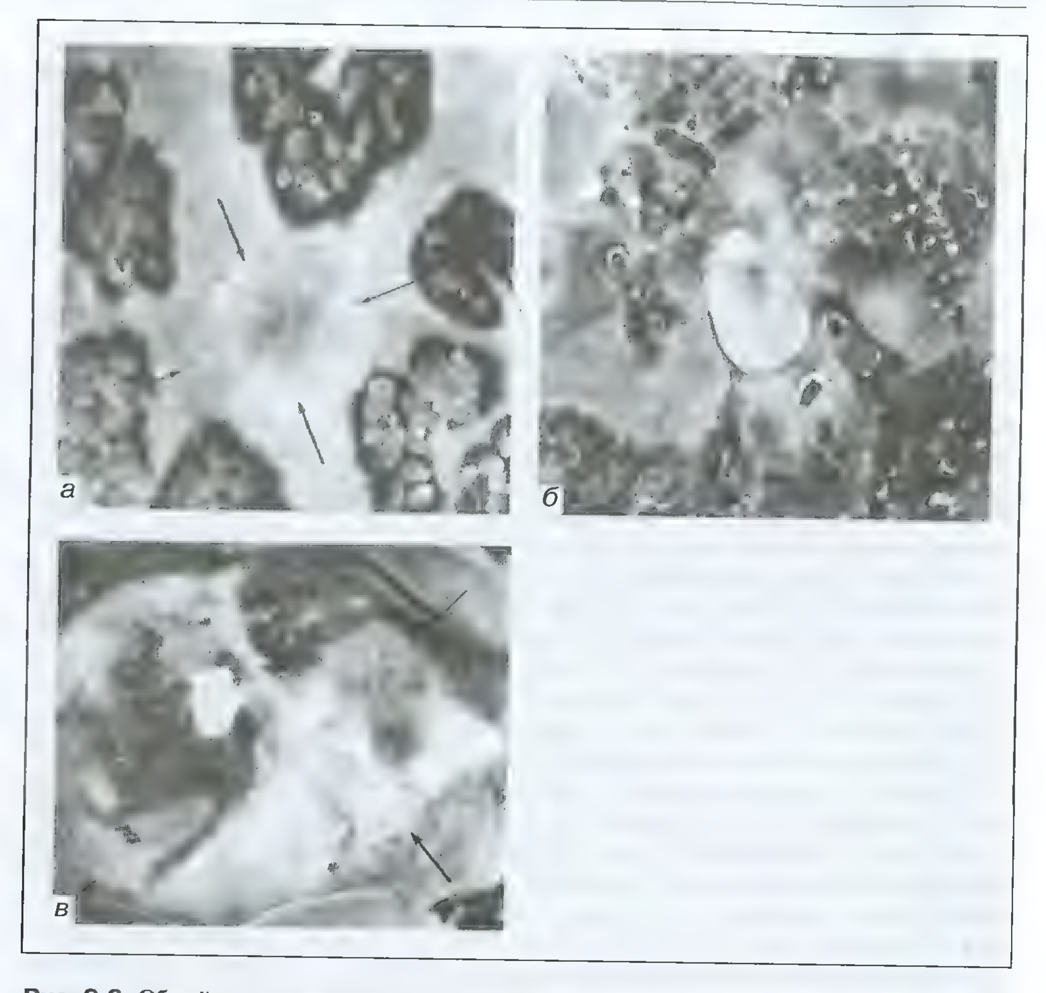


Рис. 8.3. Общий вид аллотрансплантационной реакции у морской звезды (увел. 9,6)

а – аутотрансплантат на 300-й день после пересадки. Стрелки указывают границы прижившегося трансплантата; *б* – отторжение первичного аллотрансплантата на 287-й день после пересадки. Отмечается обесцвечивание и уплотнение трансплантата; *в* – отторжение третичного аллотрансплантата на 9-й день после пересадки. Отмечаются отечность и обесцвеченные некротические участки. Стрелки указывают границы трансплантата

В качестве примера временны́х параметров отторжения можно привести результаты исследований с асцидией Styela plicata. У этих животных 75% первичных трансплантатов отторгается по хроническому типу со средним временем выживания 38 дней. При повторной пересадке развивается ускоренная реакция, демонстрирующая способность этих животных к формированию иммунологической памяти. Время выживания вторичного трансплантата – 28 дней.

Таким образом, рассмотренные типы животных, как и отмеченные выше, обладают способностью к аллораспознаванию, формированию соответствующей реакции отторжения и созданию памяти от первичного контакта с чужеродностью.

8.1.6. Позвоночные

На уровне позвоночных животных иммунитет характеризуется определенным прорывом в сторону совершенствования механизмов специфической защиты. Частным случаем прогрессивного развития иммунитета является усиление способности к отторжению аллотрансплантата.

У представителей класса круглоротых первичное отторжение проявляется еще в виде хронического воспаления с явлениями геморагий и разрушения пигментных клеток (рис. 8.4). У тихоокеанской миксины Eptatreus stoutii первичный



Рис. 8.4. Отторжение аллотрансплантата у тихоокеанской миксины Eptatreus stoutii

а – общий вид животного с трансплантатами на боковой стороне в нескольких сантиметрах от головы; *б* – полностью жизнеспособный аутотрансплантат (слева) и обесцвеченный аллотрансплантат (справа), время выживания которого близится к завершению

трансплантат кожи живет около 72 дней. В результате контакта с аллогенной тканью формируется иммунологическая память, обеспечивающая ускоренное отторжение вторичного трансплантата в среднем за 28 дней. Если вторичный трансплантат подсаживали вскоре после отторжения первичного, то разрушение пересаженной ткани завершалось за 14 дней. Обнаружено отторжение аллотрансплантата и у другого представителя круглоротых — Petromyzon marinus, относящегося к более совершенному подклассу миног. Сроки выживания первичного аллотрансплантата имеют значительные пределы колебаний — от 21 до 291 дня, что указывает, вероятно, на разную степень индивидуальных антигенных различий в паре донор—реципиент. Вторичный трансплантат отторгается в среднем за 18 дней с интервалом от 7 до 252 дней.

У хрящевых рыб, как и у круглоротых, отторжение первичного аллотрансплантата осуществляется по хроническому типу. Начало отторжения чужеродной ткани у ската Dasyatus americana приходится на 21-й день, вторичный трансплантат отторгается быстрее — за 12 дней. При этом процесс вторичного отторжения сопровождается более острой воспалительной реакцией по сравнению с тем, что наблюдается при первичной реакции. У рогатой акулы Heterodontis fracisci первичное отторжение аллотрансплантата также проходит по хроническому типу. Однако за счет многократных, повторных пересадок постепенно растет сила трансплантационного реагирования. После четвертой пересадки отторжения проходят в острой форме. Подобное замедленное формирование вторичного ответа может быть связано либо с незначительными различиями по тканевым антигенам между донором и реципиентом, либо со слабой выраженностью специфического иммунитета, требующего многократной стимуляции аллогенным антигеном.

Костные рыбы (Osteichthyes) представляют собой таксономически сложную и разнородную по морфофункциональным характеристикам группу. По мере эволюционного совершенствования внутри данного класса наблюдается постепенное нарастание силы трансплантационного реагирования.

Для рыб разработаны экспериментальные приемы трансплантации и определены критерии оценки реакции отторжения. Обычно пересаживают чешую, реже плавники. На месте удаленной чешуи реципиента в образующееся ложе вставляют чешую донора. При этом нет необходимости в каких-либо фиксирующих средствах, так как основание донорской чешуи точно соответствует подготовленному ложу. В первые сутки после трансплантации (около 72 ч) мягкие ткани донорской чешуи срастаются с тканью хозяина, устанавливается общий кровоток. Однако по истечении латентного периода развивается воспалительная реакция, характеризующаяся гиперплазией, помутнением эпителия, формированием зоны некроза, разрушением пигментных клеток. Полная потеря пигмента — признак завершения деструкции трансплантата.

Если хрящевые и костно-хрящевые рыбы демонстрируют хроническое отторжение первичного трансплантата, то у наиболее продвинутых в эволюционном отношении отрядов костистых рыб первичный аллотрансплантат отторгается в острой форме.

У костно-хрящевой рыбы веслонос (Polyodon spathula) первичный аллотрансплантат отторгается в хронической форме к 43-му дню, вторичный — значительно быстрее: со средним временем выживания около 12 дней. У араваны

(Osteoglossum bicirrhosum), относящейся к костистым рыбам, т.е. к наименее совершенному из отрядов данной группы, наблюдается промежуточная (субострая) форма отторжения первичного аллотрансплантата. Среднее время выживания в данном случае составляет 17,9 дня. Отторжение вторичного трансплантата происходит в острой форме за 5,1 дня. Более преуспевшие в эволюции костистые рыбы (золотая рыбка, сазан, барбус, живородка, фундулус) проявляют острую форму отторжения первичного аллотрансплантата. В среднем по видам первичный аллотрансплантат отторгается за 3–8,6 дня, вторичный – за 2–6 дней.

Определенное значение в интенсивности отторжения аллотрансплантата имеет температура воды. У японской оризии (Orizias latipes) при температуре воды 23 °C средний срок выживания трансплантата составляет 11 дней, при температуре 15 °C он удлиняется до 37 дней. Снижение температуры до 4 °C обеспечивает выживание трансплантата в течение всего стодневного срока наблюдения. Известно также удлинение срока выживания первичного трансплантата у этого вида рыб до 62 дней при летальном облучении. Другой пример: облучение золотой рыбки летальной дозой значительно продлевает жизнь пересаженной чешуи, а в 31–56% случаев трансплантат вообще не отторгается. Данные по облучению на рыбах соответствуют тем, которые показывают почти полное подавление иммунной отвечаемости, включая реактивность при трансплантациях, у летально облученных млекопитающих.

В целом в эволюционно прогрессирующем ряду: круглоротые–хрящевые рыбы–костные рыбы, прослеживается постепенное нарастание силы трансплантационного реагирования от менее продвинутых таксонов к более совершенным группам. Второе существенное обстоятельство для рыб заключается в том, что в отличие от беспозвоночных они способны к более длительному сохранению памяти от первичного контакта с чужеродным материалом. Например, несмотря на то что хрящевые рыбы отторгают трансплантат по хроническому типу, через два месяца все еще сохраняется память от первичной сенсибилизации.

Класс земноводных включает три отряда: хвостатые (Urodela), безногие (Apoda) и бесхвостые (Anura). Все эти отряды произошли от разных групп палеозойских земноводных, получивших общее название стегоцефалы. Наибольшим эволюционным прогрессом характеризуются бесхвостые амфибии. Хвостатые и безногие амфибии проявляют хроническую форму отторжения первичного аллотрансплантата. В то же время бесхвостые амфибии отторгают первичный трансплантат по острому типу.

У тритона Diemictylus viridescens в первые 16 дней после операции аллотрансплантат не отличим от аутотрансплантата. В этот период аллогенная ткань полностью приживается и между донором и трансплантатом устанавливается общий кровоток. Затем начинают развиваться по возрастающей процессы деструкции: расширение сосудов, застой кровотока, гибель макрофагов. Полная гибель чужеродной ткани наблюдается к 40-му дню. Повторная пересадка через 28 дней после отторжения первичного трансплантата сопровождается достаточно выраженным анамнестическим ответом. Сходная картина отторжения первичного и вторичного аллотрансплантатов продемонстрирована у другого вида тритона – Triturus cristatus. Предварительная сенсибилизация реципиентов растворимыми антигенами донора трансплантата определяет ускоренное отторжение аллогенной кожи при первичной пересадке. Для установления сроков сенсибилизации у три-

тонов проводили резекцию первичного трансплантата на теле реципиента, т.е. трансплантат удаляли через 5, 10 дней и т.д. после первичной пересадки; затем таким животным подсаживали вторичный трансплантат. Установлено, что у данного вида активная сенсибилизация наступает только через 45 дней – факт, указывающий на достаточно слабый процесс формирования специфического ответа. При изучении параметров отторжения кожных лоскутов у инбредных линий аксолотля Ambystoma mexicanum показана, как и у предыдущих видов хвостатых амфибий, хроническая форма отторжения аллогенной ткани.

Безногие амфибии также характеризуются слабой воспалительной реакцией отторжения. У Typhlonectes compressicauda отторжение первичного аллотрансплантата осуществляется со значительными индивидуальными временны́ми колебаниями в пределах 21–161 дня.

В отряде бесхвостых амфибий регистрируются субострая и острая формы отторжения. У более примитивных видов – краснобрюхой и желтобрюхой жерлянок (Bombina bombina и B. variegata соответственно), первичный кожный трансплантат отторгается в хронической форме за 50–63 дня. В результате последовательных повторных пересадок время выживания сокращается и после четвертой пересадки составляет 17–30 дней, демонстрируя тем самым формирование иммунологической памяти. Время первичного отторжения у трех видов бесхвостых амфибий распределяется следующим образом: желтобрюхая жерлянка – 50 дней, серая жаба (Bufo bufo) – 52 дня, травяная лягушка (Rana temporaria) – 28 дней. У головастиков данных видов время отторжения выглядит иначе. Жерлянка и серая жаба сохраняют трансплантат в течение всего периода метаморфоза, а у некоторых особей он живет более 100 дней. Удлинение времени выживания трансплантата в период метаморфоза можно объяснить перестройкой или ювенильной незрелостью иммунной системы. Труднее дать объяснение ускоренному отторжению за 14 дней аллотрансплантата у головастика травяной лягушки. Возможно, у взрослых особей в комплексную реакцию на трансплантат вступают Т-супрессоры, отсутствующие или слабо выраженные у животных в период метаморфоза.

Наиболее полно иммунная реактивность изучена у шпорцевой лягушки Xenopus laevis. Взрослые особи отторгают аллотрансплантат в острой форме – приблизительно за 3 недели. Способность к трансплантационному отторжению в раннем онтогенезе характеризуется определенной периодичностью. Головастики 49-й стадии развития уже способны к аллореактивности. Эффективность отторжения трансплантата возрастает постепенно в онтогенезе. Однако имеются сведения о фазовом характере развития аллореактивности – формирование некоторой формы толерантности в определенные периоды метаморфоза.

В классе амфибий прослеживается та же тенденция, что и у рыб, – сокращение времени отторжения аллогенной ткани от менее организованных к более совершенным в морфофункциональном отношении таксонов. Иначе, трансплантационный иммунитет как частный случай специфического иммунного реагирования проходит путь совершенствования внутри класса амфибий.

Современные пресмыкающиеся включают три основных отряда: черепахи (Testudines), чешуйчатые (Squamata) с двумя наиболее многочисленными в видовом отношении подотрядами – ящерицами (Sauria) и змеями (Ophidia), и крокодилы (Crocoditylia). Все эти отряды произошли от разных групп котилозавров, возникших от амфибий в каменноугольный период – около 325 млн лет тому

назад. Для иммунологов познание специфических форм зашиты от чужеродных антигенов представителей данного класса крайне интересно. так как позволяет проследить преемственную связь с птицами и млекопитаюшими, иммунитет которых изучен наиболее полно.

Следовало бы ожидать, что отторжение аллотрансплантата у рептилий будет более эффективным, чем у амфибий – эволюционно менее совершенного класса. Однако экспериментальные факты говорят об обратном. Отторжение первичного аллотрансплантата у представителей всех трех классов проходит по хроническому типу. Так, у каймановой черепахи (Chelydra serpentina) среднее время выживания первичного трансплантата равно 47 дням (интервалы 41–70 дней). При снижении температуры содержания животных до 10 °С время выживания алло- и ксенотрансплантатов увеличивается до 100 дней. Напротив, повышение температуры до 33 °С ускоряет отторжение в 1,5 раза. Зависящие от температуры сроки отторжения трансплантата не связаны, очевидно, с начальными этапами развития иммунного ответа, так как повышение температуры содержания черепах через сутки после проведения трансплантации при низкой температуре не подавляло реактивности животных. В то же время операция по пересадке ткани при высокой температуре и последующее содержание черепах в условиях низкого температурного режима обеспечивали замедленное развитие реакции отторжения.

У представителя отряда крокодилов – каймана (Caiman sclerops) – первичный аллотрансплантат отторгается за 65 дней.

Первые данные по аллотрансплантационному отторжению у яшериц были представлены в классической работе May (1923). Исследование выполнено с кожными трансплантатами хамелиона Anolis carolinensis. Аутотрансплантаты полностью срастались с окружающими покровными тканями; аллотрансплантаты разрушались к 60–90-му дню после пересадки при температуре содержания животных 23,5 °С. Отторжение сопровождалось разрушением пигментных клеток чешуи.

В качестве наглядного примера реакции отторжения у ящериц следует привести данные, полученные при работе с ящерицей-кровососом (Calotes versicolor). Трансплантируемым материалом в данном случае служили покровные чешуйки. Каждая чешуйка состоит из центрального тела – дермина, помешенного в эпидермальный футляр, который, в свою очередь, окружен тонким кератиновым слоем. В субэпителиальном слое находятся темные, звездчатые клетки – меланофоры, совместно с красными и желтыми ксантофорами. Во всех случаях через одну неделю после пересадки ауто- и аллотрансплантаты выглядят вполне жизнеспособными. Они хорошо срастаются с тканями хозяина и васкуолизируются. Эпителиум хозяина разрастается, заполняя пустоты в ложе трансплантата. Первые заметные различия между ауто- и аллотрансплантатами наблюдаются через 9 дней после пересадки. Наиболее характерный признак в этот период – набухание кровеносных сосудов, пронизывающих аллотрансплантат. В аутотрансплантате никаких видимых изменений не регистрируется. Через 15 дней в аллотрансплантате наблюдаются разрушение некоторого числа меланофоров и накопление свободных темных зерен. К 24-му дню этих зерен становится больше. Почти все меланофоры оказываются разрушенными. К 45-му посттрансплантационному дню регистрируется полное отсутствие всех пигментных клеток, что является критерием

завершения процесса отмирания аллотрансплантата. Время окончательного удаления разрушенного трансплантата в виде осыпающихся струпьев равняется 60–80 дням (рис. 8.5).

Хроническая форма отторжения аллотрансплантата описана также и для других ящериц: ящерицы-бегунка (Cnemidophorus sexlineatus), длиннохвостой ящерицы (Cnemidophorus tigris), мексиканской игуаны (Ctenosaura pectinata), европейской зеленой ящерицы (Lacerta viridas), древесной ночной ящерицы (Xanthusia vigilis). Время выживания первичного трансплантата колеблется в зависимости от видовой принадлежности животных, но в среднем оно составляет 40–80 дней. Вторичный аллотрансплантат отторгается в два раза быстрее.

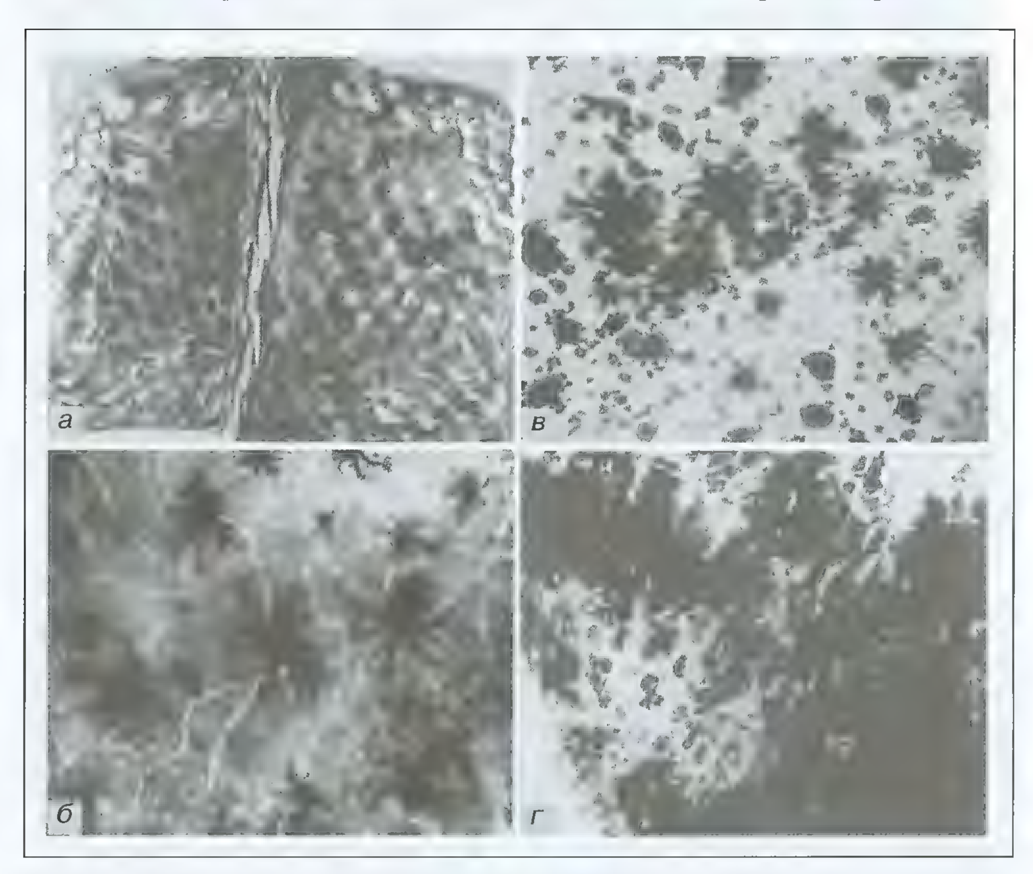


Рис. 8.5. Аллотрансплантация у ящерицы кровососа Calotes versicolor

а – кожа хозяина с участками посадки ауто- (справа) и аллотрансплантации (слева): на месте аллотрансплантата после полного отторжения виден рубец, аутотрансплантат выглядит вполне прижившимся. Два типа трансплантатов разделены спинным гребнем; *б* – часть нормальной чешуйки со звездчатыми меланофорами и кровеносными сосудами; *в* – часть чешуйки аллотрансплантата через 24 ч после пересадки: видны определенное число разрушенных меланофоров (темные неструктурированные частицы) и некоторое число сохранившихся звездчатых меланофоров; *г* – часть чешуйки аллотрансплантата через 45 дней после пересадки: видно полное разрушение меланофоров и нормальной структуры ткани

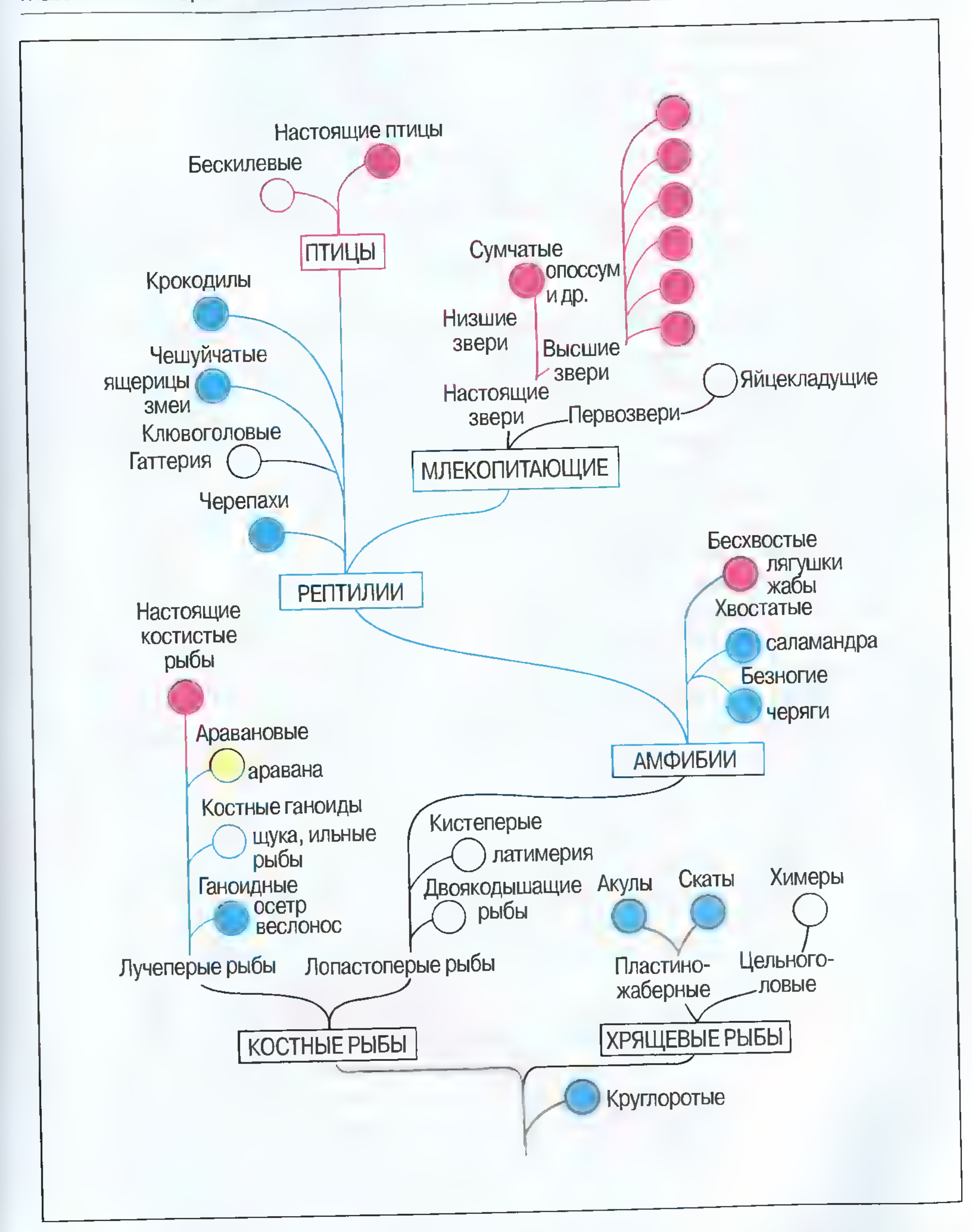


Рис. 8.6. Интенсивность отторжения первичного аллотрансплантата у представителей различных классов позвоночных животных

Красные кружки – острая форма отторжения (около 14 дней); голубые кружки – хроническая форма отторжения (более 30 дней); желтый кружок – подострая форма отторжения (около 20 дней); белые кружки – анализ не проводился

Представленные данные поднимают вопрос о причинах относительно слабого развития реакции несовместимости у пресмыкающихся. Действительно, их лимфомиелоидный комплекс развит хорошо и уровень его организации сопоставим с таковым у птиц и даже млекопитающих. У представителей рассматриваемого класса легко регистрируются реакции как гуморального, так и клеточного типов in vitro. Высказывается предположение, что хроническая форма отторжения обусловлена слабой выраженностью индивидуальных различий по антигенам гистосовместимости. Однако возможно и другое объяснение, связанное с представлением о низком уровне экспрессии основных антигенов гистосовместимости на трансплантируемом материале.

В самом общем виде сроки выживания аллотрансплантата от наиболее примитивных форм к более совершенным представителям в мире животных имеют тенденцию к сокращению. Однако в этом стратегическом направлении эволюционного совершенствования реакции несовместимости представлены некоторые исключения. Так, эффективность отторжения у губок и кишечнополостных сравнима с временными параметрами отторжения у млекопитающих. Возможно, специфический компонент иммунного реагирования у представителей данных типов низкоорганизованных животных усилен проявлением неспецифической цитотоксической реакции на чужеродность.

В типе позвоночных сохраняется общая тенденция на усиление трансплантационного реагирования от круглоротых к млекопитающим (рис. 8.6). При этом внутри отдельных классов выраженность реакции отторжения у представителей разных таксономических подразделений неоднозначна. Например, в классе рыб представители ганоидных рыб реагируют на аллогенную стимуляцию в хронической форме. Аравановые развивают реакцию отторжения средней силы. В то же время представители настоящих костистых рыб отторгают аллотрансплантат в



Рис. 8.7. **Ускорение во времени трансплантационного отторжения у представителей различных типов животных**

острой форме. Аналогичная картина неоднозначных возможностей наблюдается у представителей различных отрядов внутри класса амфибий.

В самом общем виде интенсивность отторжения первичного и вторичного аллотрансплантатов во времени у представителей различных типов животных отображена на рис. 8.7. Во всех случаях время отторжения вторичного трансплантата в 2–2,5 раза короче по сравнению с отторжением первичного трансплантата — факт, прямо указывающий на формирование иммунологической памяти от первичного контакта с аллоантигенами.

8.2. Клеточные эффекторы тканевой несовместимости

У млекопитающих в отторжении трансплантата принимает участие целый комплекс клеток и гуморальных факторов (см. гл. 5). Однако основной эффекторной клеткой в реакции несовместимости выступает все-таки цитотоксический Т-лимфоцит (ЦТЛ) — Т-киллер.

Вопрос об эволюционном становлении Т-системы иммунитета и Т-киллеров будет рассмотрен ниже. Здесь же представлены данные, которые указывают на клеточные типы, принимающие участие в реакции тканевой несовместимости от губок и кишечнополостных до высших позвоночных животных.

8.2.1. Губки и кишечнополостные

Известны клеточные события, происходящие в зоне контакта аллогенного и аутологичного трансплантата с тканью хозяина у морской губки Hymeniacidon perleve, способной к формированию иммунологической памяти на аллоантигены. На первом этапе после трансплантации, длящемся 24 ч, происходит полное слияние аллогенной ткани с тканью хозяина. В случае аутотрансплантации ткани остаются слившимися в течение всего срока наблюдения. В то же время при аллотрансплантации после этапа срастания трансплантата с хозяином отмечается интенсивная инфильтрация трансплантированного материала археоцитами (подвижными амебоцитами) хозяина. В зоне контакта происходит некроз тканей либо донора, либо донора и реципиента. В результате аллотрансплантат оказывается отторгнутым (см. рис. 8.7).

Клеточному лизису в зоне контакта, как это показано на аллопарабионтах Axinella polypoides, подвергаются клетки покровного эпителия — пинакоциты и хоаноциты, если они оказались в зоне развития реакции.

Описанные клеточные процессы не развиваются, если отторжение происходит не за счет некротических процессов, а в результате формирования разделяющего «цементного» барьера. В этом случае в зоне контакта скапливаются колленциты.

Анализ клеток, принимающих участие в реакциях несовместимости у кишечнополостных, был проведен с использованием гетерохимеры, сконструированной из Hydra magnipapillata и H. attenuata. Клетки донорской половины, которую переносили на половину хозяина, фиксированную к подложке, метили ^{3}H-тимидином. Миграция меченых клеток в организм хозяина проходила за 4 дня. Первоначально уровень миграции высокий, но затем к 2–4-му дню он снижался. Ретрансплантация свежей донорской ткани на 2–4-е сутки после первичной

трансплантации вновь обеспечивала высокий уровень миграции клеток. Высказывается мнение, что подобная динамика миграционного процесса не является следствием специфичности реакции на ксеноантигены партнера, а отражает лишь активацию подвижных клеток на оперативное вмешательство. Однако представленные факты вовсе не снимают возможности мигрировавших клеток специфически реагировать на чужеродное ксеноантигенное окружение.

Получены доказательства того, что при ксенотрансплантации у гидр (верхнюю половину H. attenuata подсаживали на нижнюю половину H. oligastis) за процессы распознавания и последующего фагоцитоза чужеродного материала ответственны клетки экто- и эндодермы. Ксенотрансплантаты приживлялись и внешне оставались стабильными. Однако при этом шел процесс медленного замещения ткани H. attenuata. Гистохимическими методами с помощью меченых антител к антигенам трансплантата продемонстрировано разрушение донорских клеток экто- и эндодермальными клетками хозяина посредством фагоцитоза. Фагоцитирующие клетки хозяина концентрировались в зоне контакта парабионтов. Известна широкая трансформация клеток кишечнополостных в зависимости от физиологического состояния организма или факторов внешней среды. Превращение экто- и эндодермальных клеток в фагоцитирующие элементы – один из примеров такой клеточной трансформации.

Данные по клеточно обусловленному процессу отторжения у губок выдвигают вопрос о механизме литического действия. Ясно только одно: основным эффектором реакции несовместимости у губок является археоцит. Однако каковы хемотаксические силы, привлекающие его в зону отторжения, за счет чего обеспечивается собственно лизис контактирующих клеток – остается неясным.

Второй вопрос, который следует из работ по выяснению клеточных событий при трансплантации, касается механизма возникновения иммунологической памяти. Вероятно, за это явление ответственны все те же археоциты, хотя подобное предположение строится скорее на общем представлении о формировании иммунологической памяти, чем на конкретных фактах по механизму вторичного отторжения у губок. Тем не менее кажется разумным видеть функциональную, филогенетическую связь между археоцитами губок и ЦТЛ млекопитающих.

8.2.2. Немертины

Методами электронной и световой микроскопии изучен клеточный состав в зоне отторжения ксенотрансплантата у гетерохимеры Lineus sanguineus (донор)–L. ruber (реципиент).

В месте первичного контакта между партнерами к 10-му дню формируется достаточно обширная область некроза, которая распространяется в пересаженной ткани от места контакта к периферии. В некротическом участке наблюдаются гиалиновые амебоциты, напоминающие макрофаги, и клетки меньших размеров – лимфоцитоподобные амебоциты. Подвижные амебоциты с выраженными псевдоподиями имеют значительное количество различного рода включений, в том числе лизосомальные вакуоли и плотные, неопределенной формы частицы.

На ранних этапах отторжения в зону контакта мигрируют малые, лимфоцитоподобные амебоциты, которые после распознавания чужеродных, гетероспе-

8.2.4. Иглокожие и оболочники

Гистологическая картина разрушения цитоархитектоники аллотрансплантата у морских звезд описана достаточно подробно. У рогатой морской звезды Protoreaster nodosus аутотрансплантат в виде кусочка наружного покрова сохраняет нормальную, свойственную данному виду морфологию. На гистологическом срезе обнаруживаются три хорошо различимых слоя: эпидермис, толстый слой собственно кожи с рыхлой соединительной тканью и, наконец, подлежащий мышечный слой, в котором видны крипты, выполняющие, очевидно, сенсорно-секреторную функцию. В толще ткани встречается незначительное количество лимфоцитов и макрофагов. При этом аллотрансплантат покровной ткани на последнем этапе выживания представляет собой картину глубокой деградации. На 160-й день после пересадки регистрируется почти полное разрушение пигментных клеток, эпидермис и собственно кожа вакуолизированы, крипты утрачены. В отмирающем трансплантате отмечается большое количество лимфоцитоподобных клеток и эозинофилов. Представительство макрофагов умеренно.

Аналогичные процессы наблюдаются и у другого вида морской звезды — Dermasterias imbricata. Гистологическая картина аутотрансплантата не отличалась от нормальной ткани. В то же время в аллотрансплантате собственные клетки кожи вытесняются клеточными элементами хозяина, представленными в основном малыми лимфоцитами и большими фагоцитирующими клетками.

Как и у иглокожих, инфильтрация аллотрансплантата у одиночной асцидии Ciona intestinalis осуществляется в основном лимфоцитами и макрофагоподобными клетками. Тщательный подсчет количества лимфоцитов и макрофагов в процессе отторжения аллотрансплантата у асцидии Styela plicata выявил следующую картину. Изучена клеточная динамика четырех типов клеток: лимфоцитоподобных клеток, макрофагов, моррулярных клеток и перстеобразных клеток. При аутотрансплантации в первое время после операции наблюдается приток клеток в ложе пересаженной ткани. Однако вскоре их число снижается до исходного физиологически нормального уровня. Аутогенная ткань полностью приживается. В случае с аллотрансплантатом на 40-й день после пересадки регистрируется повторный подъем числа клеток в инфильтрате. В количественном выражении лимфоцитов в инфильтрате всегда больше, чем макрофагов. При вторичной и третичной аллотрансплантациях максимум лимфоцитов в зоне отторжения наблюдается к 20-му дню, т.е. раньше, чем при первичном переносе.

8.2.5. Позвоночные

В настоящее время нет каких-либо сомнений в том, что основными эффекторами трансплантационного отторжения у позвоночных животных являются лимфоциты. Простое гистологическое наблюдение указывает на присутствие в воспалительном очаге — зоне отторжения аллотрансплантата — лимфоцитов, гранулоцитов, макрофагов. Более того, среди лимфоцитов доминирующее участие принадлежит Т-клеткам.

Помимо гистологических свидетельств, имеются функциональные доказательства. Так, у карася Carassius auratus способность к ускоренному отторжению

цифических антигенов трансформируются в макрофагоподобные клеточные формы, осуществляющие собственно лизис чужеродной ткани. Следует заметить, что чисто морфологические наблюдения не могут в полной мере вскрыть истинную картину отторжения. Необходимы дополнительные исследования, в частности, с применением методов иммуногистологии. Однако ясно одно существенное обстоятельство: в процессе отторжения чужеродной ткани принимают участие, по крайней мере, два клеточных типа — макрофагоподобные и лимфоцитоподобные клетки.

8.2.3. Кольчатые черви

Большая выраженность процесса отторжения при ксенотрансплантации по сравнению с аллотрансплантацией у кольчатых червей послужила основным аргументом в пользу использования межвидовых химер для анализа клеточных эффектов реакции несовместимости. При этом подразумевалось, что принципиальных различий в механизме клеточного ответа на алло- и ксенотрансплантаты не существует, а сила реакции зависит исключительно от степени антигенных различий между партнерами по пересадке.

В первые 24 ч после трансплантации происходят концентрация целомоцитов вблизи пересаженной ткани и клеточная инфильтрация трансплантата. В случае с аутотрансплантатом такая инфильтрация прекращается сразу после завершения регенерации поврежденных участков ткани, возникших в результате операционного вмешательства. По завершении воспалительной реакции происходит полное приживление аутологичной ткани. При ксенотрансплантации возрастающая инфильтрация пересаженной ткани целомоцитами хозяина сохраняется до полного ее разрушения. Ускоренное разрушения вторичного ксенотрансплантата связано с большим (в 20–30 раз) количеством клеток, мигрирующих в зону отторжения по сравнению с тем количеством, которое наблюдается при первичном отторжении.

Электронно-микроскопические исследования выявили несколько последовательных этапов развития реакции несовместимости между E. foetida (донор) и L. terrestris (реципиент). В первые три дня наблюдается инфильтрация пересаженной ткани нейтрофилами (макрофагоподобными клетками). По истечении этого времени начинается процесс деструкции внутренних, прилегающих к тканям хозяина мышечных слоев донорского трансплантата. В нейтрофилах видны фрагменты мышечной ткани и крупные фагосомы, количество которых увеличивается к 5-му дню. Через 11–13 дней нейтрофилы мигрируют во внешние мышечные слои трансплантата. На этой стадии реакции отторжения в инфильтрате появляются базофилы (малые лимфоциты), ускоряющие процесс деструкции ткани. При этом, что крайне существенно, ни у ложнооперированных, ни при аутотрансплантации в месте нарушения целостности стенки тела реципиента никогда не наблюдается какого-либо существенного присутствия лимфоцитоподобных клеток.

Таким образом, при ксенотрансплантации у кольчатых червей в реакцию отторжения вступают не только макрофагоподобные клетки, но и лимфоцитоподобные клеточные элементы, хотя их активность и не имеет той степени выраженности, которой характеризуются высшие позвоночные животные.

аллотрансплантата достигается переносом лимфоцитов пронефроса сенсибилизированных доноров в организм интактных животных.

Другой пример. Известно, что реакция в смешанной культуре лимфоцитов (СКЛ) реализуется Т-клетками, которые вступают в пролиферацию в результате распознавания антигенов главного комплекса гистосовместимости партнера. Следствием распознавания таких антигенов является накопление цитотоксических Т-клеток (ЦТЛ). По своему содержанию реакция в СКЛ есть воспроизводимый in vitro аналог одной из реакций трансплантационного отторжения аллогенной ткани. Известно участие Т-клеток в реализации СКЛ у рыб. Например, у полосатой зубатки Anarhichas lupus из периферической крови выделяли sIg^{+}- и sIg^{-}-лимфоциты (В- и Т-клетки соответственно). В однонаправленной СКЛ только sIg^{-} Т-клетки отвечали активной пролиферацией на аллоантигены стимулирующих клеток. Аналогичные результаты получены при работе со стальноголовым лососем Salmo gairdnery.

У амфибий, как и у рыб, отторжение аллотрансплантата сопровождается помимо сосудистых нарушений повышением миграции малых лимфоцитов в зону контакта с чужеродной тканью. Причем наибольшее их количество наблюдается в последний период перед отторжением. С целью изучения событий, происходящих внутри кожного аллотрансплантата тритона, пересаженную ткань после определенного времени пребывания на аллогенном хозяине возвращали исходному донору. Если ткань ретрансплантировали исходному донору через пять дней после первичной пересадки, она полностью приживалась. В то же время возврашение трансплантата через 10—20 дней не спасало его от разрушения. Связано это явление с тем, что 10—20-дневное пребывание чужеродной ткани на аллогенном хозяине оказывается достаточным для ее насыщения лимфоцитами реципиента, которые продолжают свою деструктивную работу, несмотря на восстановление первоначального генетически тождественного микроокружения. Другое существенное наблюдение. У тритона Triturus cristatus установлена более выраженная по сравнению с контролем инфильтрация аллотрансплантата лимфоцитами реципиента, предварительно сенсибилизированного антигенами донора, что указывает на участие лимфоцитов в формировании иммунологической памяти.

Во многих работах, выполненных на амфибиях, неоднократно демонстрировалась роль тимуса в развитии реакции аллонесовместимости. Во всех случаях удаление тимуса в первую неделю жизни Xenopus laevis приводит к снижению траcплантационной аллоиммунной реакции.

Дополнительным свидетельством участия Т-клеток в аллоиммунном реагировании у амфибий являются опыты по пролиферативному ответу лимфоцитов в СКЛ. Клетки селезенки и периферической крови различных частично инбредных линий аксолотля Ambystoma mexicanum развивают вполне положительную реакцию в СКЛ, хотя индекс стимуляции ниже, чем в реакции СКЛ млекопитающих, отличающихся по антигенам МНС, но сопоставим с ответом при различиях по минорным антигенам.

У жабы ага (Bufo marinus) ответ спленоцитов на аллоантигены в СКЛ достигает максимума на 7-й день культивирования и подвержен значительным индивидуальным колебаниям реагирующих клеток.

Итак, участие Т-клеток в отторжении аллотрансплантата у амфибий является достоверным фактом, хотя возможно включение в реакцию и других клеточных типов, например естественных киллеров.

Гистологические картины отторжения аллотрансплантатов у рептилий, птиц и млекопитающих достаточно сходны между собой. Помимо прямых эффекторов трансплантационного отторжения – лимфоцитов, в зоне реакции хорошо представлены клетки воспаления – неспецифические участники отторжения.

8.3. Система гистосовместимости в трансплантационном иммунитете

Эффективность отторжения трансплантата зависит, по крайней мере, от двух причин: уровня развития иммунной системы хозяина и степени индивидуальных различий по антигенам гистосовместимости между донором трансплантата и реципиентом. Подтверждением второго положения являются, в частности, исследования с дождевыми червями, полученными из разных по удаленности популяций. Очевидно, что в основе ярко выраженных различий по временны́м параметрам отторжения у иглокожих, круглоротых, хрящевых и костных рыб, хвостатых и бесхвостых амфибий, рептилий и птиц также лежат индивидуальные, антигенные различия между донором трансплантата и реципиентом.

В настоящее время устоялось мнение, что система гистосовместимости – одна из наиболее общих и древних в мире животных. Она представлена уже у наиболее примитивных многоклеточных животных – губок и кишечнополостных. Подтверждением тому факту, что данные антигены провоцируют развитие реакции специфического отторжения, являются, в частности, опыты по трансплантации у морской анемоны (Anthopleura elegantissima, тип кишечнополостных). Мышиные антитела к антигенам одного из клонов данного вида подавляют развитие трансплантационного отторжения только по отношению к взятому для иммунизации клону. С помощью моноклональных, клоноспецифических антител был выделен антиген, ответственный за развитие отторжения. Им оказался недиализуемый, чувствительный к протеазам, низкомолекулярный полипептид с молекулярной массой 10 кДа.

Система гистосовместимости описана также у наиболее успешных беспозвоночных – оболочников. У Botryllos sp. аллораспознавание контролируется одним высокополиморфным главным и несколькими минорными локусами. Свидетельством древнего происхождения рассматриваемой системы является также наличие у Drosophila sp. серологически определяемой Н-2-специфичности мышей.

В эволюционной перспективе система гистосовместимости имела очевидный успех. Получены, например, прямые доказательства гомологии между молекулами I класса МНС млекопитающих и наиболее древних позвоночных животных – хрящевых рыб.

При использовании клонированной ДНК (кДНК) в геноме акулы Triakis stylla обнаружен ген, нуклеотидная последовательность которого гомологична последовательности, контролирующей третий домен тяжелой цепи молекулы I класса МНС. Более того, в этом домене сохранились последовательности, которые важны для взаимодействия с корецептором CD8. Факт сам по себе примечательный, так как позволяет предполагать наличие уже на уровне хрящевых рыб механизма

внутритимусной дифференцировки предшественников цитотоксических Т-лимфоцитов. В других исследованиях клонирована ДНК, кодирующая полипептид, аминокислотная последовательность которого гомологична β-цепи молекулы II класса МНС млекопитающих.

В то же время к настоящему времени при работе с кДНК и прямым анализом белковых продуктов, контролируемых этими генами, установлено наличие молекул I и II классов МНС у представителей всех классов челюстноротых, но не у бесчелюстных животных (табл. 8.2 и рис. 8.8).

Кроме того, у челюстноротых определены гены в МНС, контролирующие элементы протеосом lmp 2 и lmp 7, а также белки-транспортеры (ТАР 1,2), от которых зависит поступление пептидов в эндоплазматический ретикулум, где происходит их взаимодействие с молекулами I класса МНС (см. гл. 5). Подобные, важные для процесса переработки антигена в иммуногенную форму гены также не обнаружены у бесчелюстных (миксина, минога).

Эти факты входят в противоречие с известными данными об алло- и ксенотрансплантационном отторжении с созданием иммунологической памяти у беспозвоночных и круглоротых. Высказывается мнение, что за аллогенную цитотоксическую реакцию у этих групп животных ответственны НК-клетки – метчики «своего». У мышей рецептор НК-клеток KIR (158 a,b) препятствует лизису клеток, несущих собственные молекулы МНС I класса, но лизис происходит, если НК-клетки встречаются с аллогенной формой этих молекул. Как и у мышей, подобные отношения существуют и у беспозвоночных, и у круглоротых. Однако при этом остается нерешенным крайне важный вопрос: за счет каких механизмов все-таки формируется память от первичного контакта с трансплантационным антигеном?

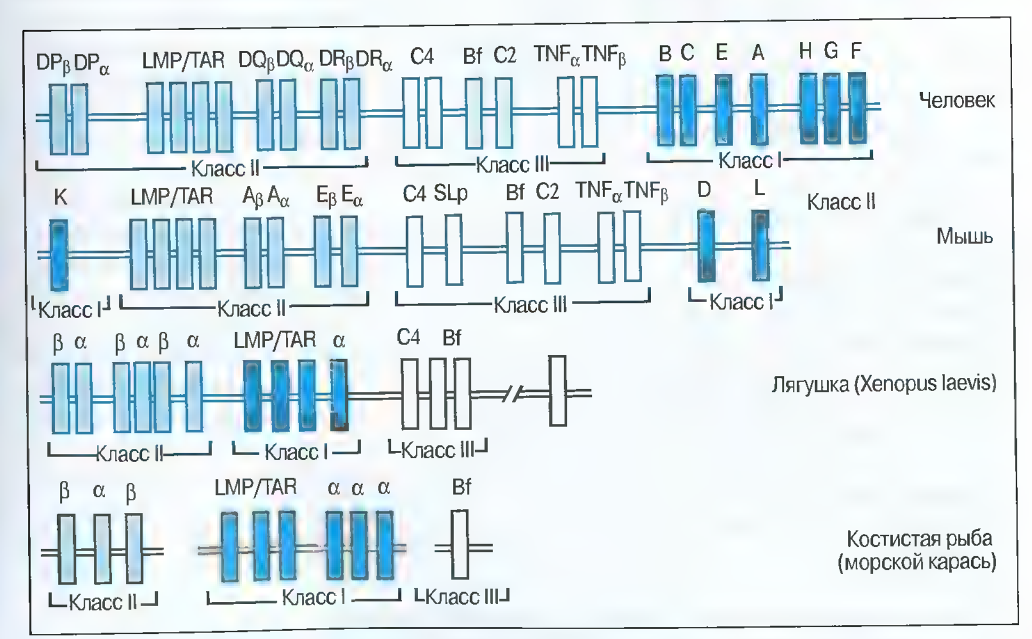


Рис. 8.8. **Генетическая карта главного комплекса гистосовместимости у различных позвоночных животных (упрощено)**

Таблица 8.2.

Структурные и функциональные характеристики главного комплекса гистосовместимости (МНС) у позвоночных животных (по: Du Pasquier, Frajnik, 1998)

Таксон	Функциональные свойства	Идентифицированные гены и молекулы
Бесчелюстные		
Круглоротые	Отторжение трансплантата хроническое	С3-компонент комплемента
Челюстноротые		
Хрящевые рыбы	Отторжение трансплантата хроническое; нет реакции в СКЛ	МНС класса IIα и класса IIβ, МНС класса I по кДНК
Костистые рыбы	Отторжение трансплантата; реакция в СКЛ; презентация антигена; внутриклеточный процессинг антигена; МНС-рестриктированное Т–В-взаимодействие	МНС класса IIα, класса IIβ, класса Iα, класса Iβ, β_2-m по кДНК
Амфибии		
Хвостатые	Отторжение трансплантата хроническое; слабая реакция в СКЛ: низкая пролиферация; МНС класса I	МНС класса Iα и класса IIβ по кДНК; белки МНС класса I и класса II, выявленные по реакции с антисывороткой
Бесхвостые	Отторжение трансплантата; реакция в СКЛ; реакция хозяин против трансплантата: МНС-рестриктированное Т–В-взаимодействие; участие в созревании Т-клеток; преходящая толерантность; МНС класса II у взрослых Т-клеток	Идентифицированы гены и белки МНС класса IIα, класса IIβ, класса Iα; β_2-m-подобные молекулы копреципитируют с белком МНС класса I; С4, Bf в МНС
Рептилии		
Чешуйчатые (ящерицы)	Отторжение трансплантата; реакция в СКЛ; реакция трансплантат против хозяина; наличие ЦТЛ	МНС класса Iα по кДНК; МНС класса I, класса II и β_2-m-подобные белки, выявленные с антисывороткой
Птицы		
Куриные	Отторжение трансплантата; реакция в СКЛ; реакция трансплантат против хозяина; МНС-рестриктированное Т–В-взаимодействие; полиморфизм	МНС класса Iα, класса IIβ, класса IIα и β_2-m по кДНК; B–G-молекулы по кДНК
Млекопитающие		
грызуны (мыши)	Все признаки описаны в гл. 4	

Для объяснения имеющихся противоречий L. Du Pasquier и M. Flajnik (2000) выдвинули ряд предположений: а) Ig, ТКР и МНС не были крайне необходимы ко времени появления круглоротых; б) соответствующие гены были потеряны суще-

ствующими в настоящее время видами, возможно, благодаря особенностям образа жизни (паразитизм, сапрофитность); в) гены дивергировали так давно и сильно, что создаются помехи в их определении у беспозвоночных и круглоротых.

Из всех высказанных наиболее реальным, как нам кажется, является последнее предположение. Оно дает определенное объяснение тем алло- и ксенотрансплантационным отторжениям, которые проявляются у беспозвоночных и бесчелюстных. Так, у насекомых серологическим методом обнаружены специфичности, родственные продуктам главного комплекса гистосовместимости мышей (комплексу Н-2). При анализе кДНК у губок выявлен белок – рецепторная тирозинкиназа (RTK), включающая домен, гомологичный V-домену иммуноглобулина человека.

* * *

Методический прием, основанный на внутривидовой пересадке тканей, оказался достаточно информативным для решения проблем эволюционной иммунологии. В первую очередь он внес вклад в определение уровня, начиная с которого находит свое проявление специфическая иммунная реакция защиты от чужеродности.

По современным представлениям, наиболее просто организованные многоклеточные (губки, кишечнополостные) уже обладают простейшими механизмами специфического реагирования. Основу такой реакции составляет способность к распознаванию чужеродности с формированием кратковременной иммунологической памяти. Конечно, иммунная реактивность у этих животных слаба и не является приобретением всех представителей соответствующих таксонов. Однако важен сам факт, демонстрирующий первые признаки специфического ответа на чужеродность.

Возникновение новой функциональной системы имело явно прогрессивное значение для многоклеточных, о чем свидетельствуют данные по формированию все более совершенных способов отторжения чужеродной ткани и созданию все более длительной иммунологической памяти по мере подъема по филогенетической лестнице.

Вопрос о клеточных эффекторах трансплантационного отторжения в определенных пределах кажется относительно решенным. Во всех случаях в зоне отторжения трансплантата помимо клеток воспаления – макрофагов, гранулоцитов, нейтрофилов и других – обязательно присутствуют лимфоцитоподобные клетки (вероятные НК-клетки) или истинные лимфоциты у высших беспозвоночных животных. Их количество и динамика включения в процесс варьируют в зависимости от филогенетического уровня реципиента. При этом прямое участие данных клеточных типов в реакции отторжения не вызывает сомнения. До некоторого времени оставался неясным вопрос о типе клеток, реализующих реакцию несовместимости у губок и кишечнополостных. Теперь кажется понятным, что в очаге отторжения скапливаются как блуждающие амебоциты (археоциты), так и трансформирующиеся в фагоцитирующие элементы – клетки паренхимы.

Участие блуждающих амебоцитов этих животных в аллотрансплантационном отторжении заслуживает особого внимания. Функциональная идентичность археоцитов и лимфоцитов более высокоорганизованных животных в реакции гисто-

9. Заказ № 67.

несовместимости реализуется, вероятно, через один и тот же молекулярный механизм. Это — распознавание чужеродного антигена предковым рецептором, либо предшественником Т-клеточного рецептора (ТКР), либо иммуноглобулинподобным доменом (таким, например, как V-домен рецепторной тирозинкиназы губок), представленных на археоцитах, и полноценным ТКР у высших позвоночных животных, что позволяет говорить об эволюционной преемственности как распознающих структур, так и клеток, несущих эти структуры.

Ясно, что реакция трансплантационного отторжения есть ответ на чужеродные антигены. У позвоночных животных индукторами реакции являются в основном молекулы гистосовместимости. Наличие молекулярной системы гистосовместимости обнаружено и у беспозвоночных. Однако остается пока неясным — являются ли эти системы аналогами или гомологами по отношению друг к другу. Пока, по данным с кДНК структур, гомологичных МНС класса I или II, не обнаружено. По-прежнему решение проблемы находится в сфере молекулярно-генетических исследований.

Глава 9. ЭВОЛЮЦИЯ Т-СИСТЕМЫ ИММУНИТЕТА

В главе 4 представлена картина работы Т-системы иммунитета у млекопитающих. Несмотря на определенную схематичность изложенного там материала, являются очевидными функциональная сложность и комплексность рассматриваемой системы. Ясно, что полноценному проявлению этой системы у млекопитающих предшествовал длительный путь эволюционного развития. Задача данной главы как раз и состоит в том, чтобы на основании накопившихся фактов воспроизвести этапы исторического становления Т-системы иммунитета.

9.1. Возникновение и развитие тимуса

Тимус как центральный орган иммунной системы представляет собой эволюционное приобретение позвоночных животных. У всех беспозвоночных он отсутствует, даже в зачаточной форме. Возникновение данного органа у примитивных позвоночных животных было бесспорно ключевым событием в эволюции иммунитета, и по своей значимости его следует отнести к эволюционному событию, подходящему под определение ароморфоза. Действительно, появление специальной органной структуры, основное назначение которой — генерализация в онтогенезе Т-клеточного пути развития, значительно повысило эффективность работы всей системы специфической иммунной защиты. Именно в тимусе происходит формирование основных функционально самостоятельных субпопуляций Т-клеток, именно в тимусе медиаторы иммунитета находят свое наиболее эффективное выражение в регуляции созревания Т-клеточного пула и, наконец, именно от тимуса зависит заселение периферии дифференцированными эффекторными и регуляторными клетками, принимающими непосредственное участие в иммунном реагировании.

Локализация тимуса у представителей различных классов позвоночных животных представлена на рис. 9.1.



Рис. 9.1. Распределение лимфоидных органов и тканей у позвоночных животных (по: Du Pasquier, Flajnik, 1998)

ЛТК – лимфоидная ткань кишечника

9.1.1. Круглоротые

В классе круглоротых произошло важное эволюционное событие, определившее формирование Т-системы иммунитета в качестве самостоятельного морфофункционального образования, входящего в общую систему специфической иммунной защиты. Это событие связано с возникновением в данном классе зачаточного тимуса.

У миксин каких-либо морфологических структур, хотя бы отдаленно напоминающих тимус, еще нет. Однако у более совершенного подкласса миног в области жаберных щелей обнаруживается лимфоидная ткань, которую считают прообразом лимфоэпителиального тимуса более высокоорганизованных животных. По данным Ланге и соавторов (1990), это единственное достаточно локальное скопление лимфоцитов с относительно высоким уровнем митотической активности, превышающей пролиферативный потенциал данных клеток в периферической крови (рис. 9.2).

Следует, однако, заметить, что некоторые исследователи отвергают наличие у круглоротых зачаточного тимуса. И строится подобное мнение не на морфологических данных, а на общем представлении о том, что бесчелюстные, к которым собственно и относятся круглоротые, вообще не имеют каких-либо форм специфической защиты. Действительно, у круглоротых при использовании кДНК пока не найдены гены, контролирующие основные молекулы специфического иммунитета: Ig, ТКР, МНС. Однако эти факты не говорят об отсутствии соответствующих генов, но лишь о глубокой их дивергенции в процессе эволюции от прототипа.

9.1.2. Хрящевые рыбы

Хрящевые рыбы в целом как класс характеризуются наличием тимуса, расположенного в головной части вблизи глазных впадин. Показательно, что у таких примитивных хрящевых рыб, каковыми являются цельноголовые (Holocephali), тимус уже дифференцирован на корковую и медуллярную зоны. У представителей другого подкласса – пластинчатожаберных (Elasmobranchii; акулы, скаты) – также имеется тимус. Причем он, как и у других более высокоорганизованных позвоночных животных, подвержен возрастной инволюции.

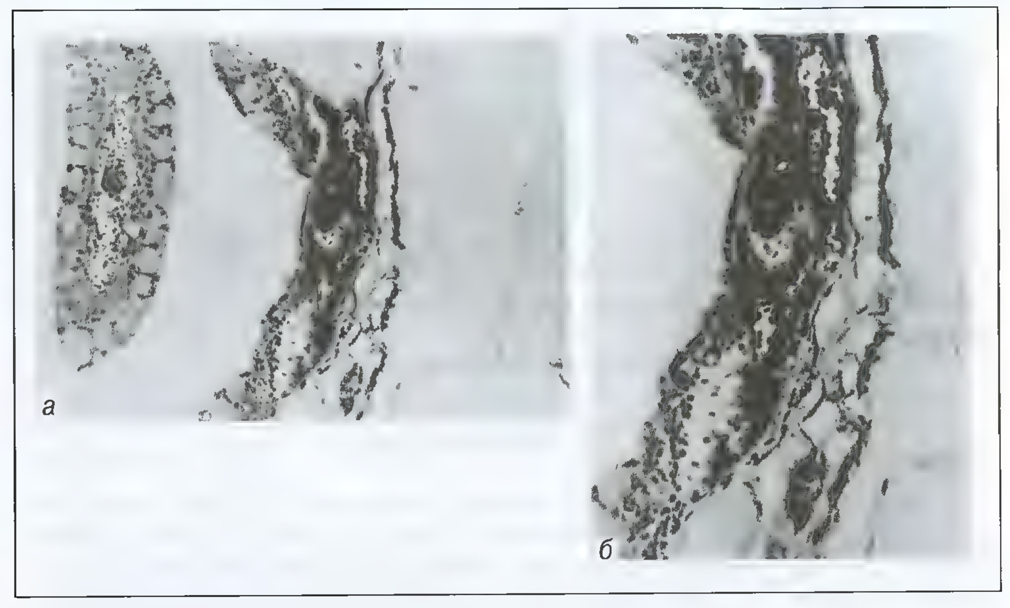


Рис. 9.2. Лимфоидные клетки в жаберном кармане личинки ручьевой миноги Lampetra planeri (Ланге и др., 1990)

а – увел. 125; *б* – увел. 500

9.1.3. Костные рыбы

В классе костных рыб лимфоэпителиальный тимус представлен не только у настоящих костистых рыб (Teleostei), но и у ганоидных, каковыми, например, являются веслонос (Polyodon spatula) и ильная рыба (Amia calva), хотя у другого представителя данного подкласса – панцирной щуки (Lepisosteus osseus) – тимус не обнаружен.

В онтогенезе птиц и млекопитающих тимус развивается из эпителия одного или нескольких глоточных карманов. Возникающие структуры отделяются от основного эпителиального слоя. У костных рыб, однако, тимус остается связанным с глоточным эпителием. У взрослых рыб он расположен под жабрами, в месте крепления верхнего конца жаберных дуг.

При работе с лососевыми было показано, что развитие тимуса начинается раньше начала формирования селезенки. Лимфоциты появляются в зачатке органа за 22 дня до выклевывания. В то же время селезенка остается не вполне развитой до 12-го дня послезародышевой жизни. Тимус лососевых не имеет деления на кортикальную и медуллярную зоны, что указывает на его морфофункциональную ограниченность. Подобное обстоятельство кажется неожиданным, поскольку костные рыбы эволюционно более совершенная группа по сравнению с хрящевыми, для которых известно гистологическое деление на кору и медуллу. Впрочем, у лососевой рыбы кунджи (Salvelinus leucomaenis) установлено достаточно четкое разграничение на две зоны.

При изучении различных видов костистых рыб исследователи пришли к заключению, что деление на кору и медуллу в тимусе этих рыб выражено хуже, чем у млекопитающих. Отсутствовали также тельца Гассаля — место концентрации эпителиальных клеток и показатель морфофункционального совершенствования органа. Но есть и исключения: у широко распространенного в прудовых хозяйствах мира вида Tulip mossambica тимус не только дифференцирован на корковый и медуллярный слои, но и имеет, как и вышестоящие позвоночные животные, тельца Гассаля.

Интересное исследование было проведено с моноклональными антителами к различным антигенам тимоцитов взрослого карпа (Cyprinus carpio). Уже через 3–4 дня после оплодотворения в зачатке тимуса появляются большие лимфоциты, имеющие один из антигенов тимоцитов взрослых особей. Начиная с 7-го дня, спектр антигенных маркеров расширяется, что указывает на развивающиеся процессы внутритимусной дифференцировки. Процесс созревания тимуса сопровождается апоптозом клеток органа, более выраженным в коре, чем в медулле, что хорошо видно с помощью электронного микроскопа. Клетки в состоянии апоптоза захватываются макрофагами. Наиболее ярко эти процессы наблюдаются через 4 недели развития. Сам по себе этот факт косвенно говорит о селекции тимоцитов в коре. Ультраструктурное исследование представило картину гетерогенности эпителиальных клеток в тимусе — основных участников селекционных процессов у млекопитающих. Их локализация в дольке тимуса выглядит следуюшим образом: а) самостоятельный тип эпителиальных клеток в небольшом количестве располагается в околососудистой и околотрабекулярной зонах; б) основная масса эпителиальных клеток занимает кортикальную и медуллярную зоны; в) на границе между корой и медуллой наблюдаются так называемые клетки-няньки; г) в медулле отмечаются тельца Гассаля. Подобная гистологическая картина тимуса карпа ничем не отличается от того, что известно для тимуса млекопитающих (см. гл. 4).

Возрастная инволюция тимуса, по-видимому, является общим принципом для всех позвоночных животных, включая рыб. В специальном исследовании тимуса канального сомика (Ictalurus punctatus) показано, что число тимоцитов в органе у 3–10-месячных особей остается постоянным и равняется в среднем $3 \cdot 10^7$ клеток. В последующие два месяца величина органа резко увеличивается и достигает уровня $3 \cdot 10^9$ клеток. Начиная с 15-месячного возраста тимус переходит в стадию активной инволюции. К 17-ти месяцам тимусная ткань визуально не обнаруживается. Этот естественный процесс инволюции может быть усилен стрессовым воздействием, таким как помещение рыб в ограниченное пространство аквариума или в результате транспортировки. Подверженность тимуса экспериментальным воздействиям проявляется и в опытах с дезоксикортизонацетатом. При сублетальных дозах препарата в аквариуме, где содержалась японская оризия (Orizias latipes), наблюдалось уменьшение величины тимуса и количества тимоцитов. Более высокая доза приводила к полной деградации органа.

Как и у млекопитающих, тимус рыб является поставщиком дифференцированных клеток для периферических лимфомиелоидных органов. При работе с мечеными ^{3}H-тимидином in situ тимоцитами стальноголового лосося (Salmo gairdneri) установлено, что покидающие тимус клетки поступают в небольшом количестве в селезенку. В почки и печень их мигрирует в 2 раза меньше. В тканях кишок и мышц увеличение метки не зафиксировано. Выселяющиеся из тимуса клетки создают

потенциал долгоживущих Т-лимфоцитов периферии, продолжительность жизни которых более 5 месяцев. Такое заключение следует из опытов по анализу антителопродукции к тимусзависимому антигену у стальноголового лосося. Тимэктомия взрослых особей за 5 месяцев до иммунизации рыб Aromonas salmonicida не оказывала влияние на величину антителопродукции. В то же время титры антител снижались у рыб, тимэктомированных за 9 месяцев до введения антигена.

Функциональная роль тимуса в иммунных процессах проявляется, в частности, при формировании ответа к аллоантигенам. Так, летальное облучение золотой рыбки продлевает жизнь трансплантата, а в 31—58% случаев чужеродная чешуя вообще не отторгается. Защита области тимуса при облучении свинцовым экраном сохраняет силу иммунного отторжения аллотрансплантата. Среди прочего участие тимуса в реакции на антиген проявляется в усилении миграции больших лимфоцитов из медуллярной зоны. О реальности подобного процесса говорят опыты, проведенные с кунджи. Введение этим рыбам гетероантигена приводит к истощению больших лимфоцитов медуллы к 12-му дню после инъекции антигена. В последующем по мере затухания иммунного ответа медуллярная зона восстанавливается.

9.1.4. Амфибии

Наиболее полно иммунная система в целом и Т-система в частности изучена у представителя бесхвостых амфибий — шпорцевой лягушки Xenopus laevis.

В онтогенезе тимус у данного вида возникает через 3 дня после оплодотворения в результате инвагинации дорсального эпителия второго глоточного кармана. У эмбриона существуют два мезодермальных компартмента стволовых клеток: вентральный кровяной островок (ВКО) и дорсолатеральный участок мезодермы. Тимусный трехдневный зачаток колонизируется только клетками из ВКО. В то же время во взрослой жизни в тимус мигрируют предшественники из дорсолатерального участка. Появляющиеся в эмбриональном тимусе большие лимфобласты начинают пролиферировать in situ.

У личинок на 6—8-й дни развития (стадия 48) уже сформированы кора и медулла. В отличие от млекопитающих у X. laevis корковая и медуллярная зоны отделены друг от друга особым клеточным барьером, который богат кровеносными сосудами и IgM-продуцирующими клетками. Кора содержит в основном пролиферирующие лимфоциты, окруженные эпителиальными клетками. Кроме того, здесь представлены макрофаги и дендритные клетки. После завершения метаморфоза в коре появляются клеточные элементы, напоминающие клетки-няньки млекопитающих. В медуллярной зоне помимо лимфоцитов и клеток стромы изредка видны миелоидные клетки, клетки слизистых покровов и пузырчатые, дегенерирующие клетки.

В течение онтогенеза тимус X. laevis претерпевает две волны инволюции. До полуторамесячного возраста (стадия 58) идет постепенное нарастание числа клеток органа до $1-2{\cdot}10^6$ лимфоцитов. Однако на завершающем этапе метаморфоза к 58-му дню развития (стадия 66) наблюдается первая волна инволюции. Количество лимфоцитов в органе снижается до $1{\cdot}10^5$. В этот период в сокращающейся коре обильно представлены макрофаги, а сам тимус перемещается в область среднего уха. Эта волна инволюции сменяется новым гистогенезом. В результате к

двум-трем месяцам орган достигает максимума и содержит $1–3·10^7$ клеток. Ко времени полового созревания тимус прогрессивно «стареет» и лимфоидная паренхима замещается соединительной и жировой тканями.

Функциональная роль тимуса в иммуногенезе наиболее ярко проявляется в опытах с тимэктомией. Удаление тимуса приводит к резкому ослаблению аллотрансплантационной реакции, подавлению ответа в смешанной культуре лимфоцитов, угнетению пролиферации к Т-клеточным митогенам, снижению гуморального иммунного ответа к Т-зависимым антигенам. При этом реакции, которые развиваются без прямого участия Т-клеток, такие как ответ лимфоцитов к В-клеточным митогенам, антителопродукция к Т-независимым антигенам, не страдают у бестимусных животных.

Одно из существенных свойств тимуса амфибий состоит в его способности осуществлять положительную и отрицательную селекцию клонов тимоцитов. Эта ситуация, очевидно, гомологична той, которая известна у млекопитающих. Работа по выяснению данного явления была проведена с тремя линиями X. laevis: LG3, LG15 и LG6; две последние линии имеют общие антигены МНС, но отличаются друг от друга по минорным антигенам гистосовместимости. Линия LG3 обладает гаплотипами b/d, отличающимися от гаплотипов двух других линий. Животные с гаплотипами b/d отторгают кожу гаплотипа a/c в острой форме. Ситуация меняется, если создаются условия созревания Т-эффекторов в чужеродном тимусе. Опыты были проведены с аллогенными химерами, которые создавали по следующей схеме. Головной участок (место закладки тимуса) от 24-часовых зародышей брали от линии LG15 (a/c), туловищную часть (место развития стволовых элементов, мигрирующих в тимус) – от линии LG3 (b/d). Развившиеся химеры отторгали кожу гаплотипа b/d, но не разрушали кожу гаплотипа a/c от линии LG15, т.е. лимфоциты гаплотипа b/d, прошедшие развитие в тимусе гаплотипа a/c, принимают кожу гаплотипа a/c как свою собственную. Однако те же самые химеры отторгали кожу LG6 (a/c), отличающуюся от LG15 только минорными антигенами гистосовместимости. Иначе, самораспознавание собственных антигенов МНС не затрагивает нормального распознавания иных антигенов, не связанных с МНС. Дополнительным подтверждением селективной работы тимуса являются опыты, проведенные с триплоидными Xenopus (гаплотип МНС j/j/j). Трансплантация таким облученным триплоидам тимуса от гетерозиготных животных (j/k) приводит к толерантности хозяина по отношению к чужеродному антигену k.

Представленный фактический материал замечателен в том отношении, что указывает на филогенетический уровень в эволюционном развитии тимуса, начиная с которого возникает способность к селекции клонов при внутритимусной дифференцировке. Возможно, подобная селекция уже происходит и у рыб как организмов, имеющих полный набор молекулярных и клеточных факторов для такой селекции.

9.1.5. Рептилии

Подобно другим позвоночным, тимус рептилий начинает свое развитие на самых ранних этапах онтогенеза. В результате инвагинации дорсального эпителия глоточных карманов происходит закладка органа. Тимус ящериц, змей, черепах развивается от разных пар глоточных карманов. Так, у ящериц данный орган берет

свое начало от второго и третьего, у змей – от четвертого и пятого, у черепах – от третьего и четвертого глоточных карманов. Транзиторные и рудиментарные тимусные почки могут происходить также от эпителиальных закладок других глоточных карманов.

В развитии тимуса многих рептилий есть одна особенность, связанная с тем, что он начинает свое формирование в анатомической области с паращитовидной железой. В результате ткань железы оказывается погруженной в паренхиму тимуса. У черепахи Chelidra serpentina тимус не только окружает паращитовидную железу, но и совместно с ней «владеет» общей сонной артерией, делая невозможным хирургическую тимэктомию у данного вида. Напротив, тимус ящерицы Calotos versicolor территориально отделен от паращитовидной железы, что обеспечивает возможность успешной тимэктомии.

У взрослых животных в зависимости от принадлежности к одному из четырех отрядов рептилий наблюдаются анатомические вариации органа как по локализации, так и по числу сформированных долей. Например, у гаттерии и большинства ящериц и змей имеются две нерасчлененные доли с каждой стороны шеи, отдельная доля состоит из коры и медуллы и не подразделяется на дольки. Тимус крокодила представлен вытянутыми, четкообразными структурами, которые начинаются у основания черепа, проходят по всей длине шеи и заканчиваются в области сердца. Подобная анатомия тимуса крокодила напоминает гомологичный орган птиц. Наиболее структурирован тимус у черепах. Он представлен одной долей с каждой стороны шеи в районе раздвоения сонной артерии. Отдельно взятая доля, в свою очередь, подразделяется на более мелкие, с собственной корой и медуллой.

Кора тимуса состоит из плотно упакованных малых лимфоцитов, которые окружены тонкой сетью звездчатообразных эпителиальных клеток. В медуллярной зоне преимущественно зрелыми клетками являются слабо окрашиваемые эпителиоциты. Количество лимфоцитов в медулле относительно невелико. Дополнительными клетками этой зоны являются макрофаги, эозинофилы и моноциты.

При ультраструктурном изучении выявлены три типа эпителиальных клеток, в которых наблюдается хорошо развитый аппарат Гольджи, набор темных гранул, эухроматическое ядро. Все эти цитоморфологические признаки указывают на активные, биосинтетические, внутриклеточные процессы. Предполагается, что именно данные клетки могут быть продуцентами тимусных гормонов, хотя никаких прямых доказательств такой возможности не получено. Хорошо выявляемые у млекопитающих тельца Гассаля – место концентрации эпителиальных клеток – у рептилий не обнаружены.

Как и у всех других позвоночных животных, тимус рептилий подвержен возрастной инволюции, выражающейся в нивелировке различий между корой и медуллой и замещении лимфоидной массы органа соединительной тканью.

Анализ функциональной роли тимуса рептилий в иммуногенезе не имеет того экспериментального наполнения, которым характеризуется класс амфибий. Тем не менее при работе с ящерицами установлено, что тимэктомия во взрослом состоянии и антитимоцитарная сыворотка значительно снижают ответ к тимусзависимым антигенам. Это подавление коррелирует с истощением Т-зон в селезенке.

9.1.6. Птицы

Тимус птиц представляет собой парный набор семи желез (долей), расположенных на правой и левой сторонах шеи, от нижней челюсти до грудной клетки. Нижние доли могут быть погружены в ткань щитовидной железы. В отдельно взятой доле различают кортикальную и медуллярную зоны.

В онтогенезе тимус птиц начинает свое развитие из третьего и четвертого глоточных карманов. Первые лимфоциты в зачатке тимуса появляются на 11-й день эмбриогенеза. Это крупные клетки с диаметром около 11 мкм. В последующие дни большие лимфоциты замещаются клетками меньших размеров. Так, между 11-м и 13-м днями эмбрионального развития преимущественный размер тимоцитов составляет 8 мкм, к 16-му дню основная масса клеток имеет размер около 5,5 мкм. Смена гистологической картины связана, очевидно, с процессами внутритимусной дифференцировки и поэтапного перехода клеток от незрелых предшественников к более зрелым формам. Об этом, в частности, говорит факт корреляции размера тимоцитов с появлением на 12—13-й дни зародышевого развития эмбрионального тимусзависимого антигена (Т-АГ). В этот период гетерохроматин клеток становится более дифференцированным. Ретикулоэндотелиальные клетки тимуса 12—13-дневных эмбрионов характеризуются наличием электронно-прозрачных вакуолей и плотных гранул, некоторые из которых сливаются между собой. Эти чисто морфологические факты указывают на активные внутриклеточные, биосинтетические процессы. Предполагается, что ретикулоэндотелиальные клетки в подобном функциональном состоянии обеспечивают секрецию медиаторов (возможно, тимусных гормонов), ответственных за дифференцировку тимоцитов.

Как и у млекопитащих, тимус птиц является поставщиком функционально отличающихся субпопуляций Т-клеток. Интересны наблюдения, проведенные с тимусом кур в эмбриональный период и сразу после вылупления. В эти периоды онтогенеза тимус содержит значительное количество Т-супрессоров. Тимоциты 16—20-дневных эмбрионов в системе адоптивного переноса удлиняют жизнь трансплантата и не способны генерировать реакции трансплантат против хозяина (РТПХ). В то же время клетки тимуса вполне взрослых кур не оказывают супрессорного воздействия на РТПХ. Кроме того, тимус взрослых птиц содержит предшественники цитотоксических Т-лимфоцитов, что подтверждается опытами по генерации in vitro данной субпопуляции клеток из тимоцитов.

9.2. Эволюция Т-клеточного комплекса

Приблизительно до середины 1960-х годов существовало мнение, что беспозвоночные, как первично-, так и вторичноротые, не способны формировать специфический иммунный ответ к чужеродным антигенам. Подобную «несостоятельность» некоторые исследователи связывали с отсутствием у беспозвоночных тимуса. Позднее в группу иммунологически инертных животных включили и бесчелюстных (круглоротых). О причинах подобного отрицания смотрите выше в этой главе.

Опыты по отторжению алло- и ксенотрансплантата у дождевых червей и обнаружение у этих животных специфической иммунологической памяти, а также аналогичные исследования, проведенные по аллотрансплантационному отторжению у губок и кишечнополостных, опровергли устоявшееся мнение. Главный результат таких исследований заключается в констатации того факта, что беспозвоночные, как и позвоночные животные, способны отличать «свое» от «чужого», развивая специфический ответ с созданием иммунологической памяти. Сам по себе этот вывод имеет принципиальное значение, так как указывает на филогенетический уровень зарождения всей Т-системы специфической иммунной защиты.

В очаге отторжения аллогенной ткани у всех подвергавшихся анализу на тканевую совместимость беспозвоночных, за исключением губок и кишечнополостных, обнаружены клетки, напоминающие лимфоциты позвоночных животных. Естественным было предположение о том, что именно эти клетки обладают свойством распознавания чужеродности и инициируют трансплантационное отторжение. Однако тут же возникает вопрос: являются ли лимфоцитоподобные, эффекторные клетки беспозвоночных гомологами или же они всего лишь аналоги лимфоцитов позвоночных животных? Имея определенный набор сравнительных экспериментально полученных характеристик, можно подойти к решению выдвинутого вопроса.

Основные критерии, которые должны лечь в основу для определения формы родства между эффекторами клеточного иммунитета двух сравниваемых филогенетических групп, следующие:

1) степень морфологического сродства между клетками беспозвоночных и позвоночных животных (обязательная, но недостаточная характеристика в решении выдвинутого вопроса);

2) наличие или отсутствие общих клеточных маркеров и рецепторов у эффекторных клеток сравниваемых групп;

3) спектр функциональной активности клеток-эффекторов беспозвоночных и позвоночных животных.

9.2.1. Морфологическая характеристика

Лимфоцитоподобные клетки обнаружены у простейших червей и у всех целомических животных. Наиболее полно данный тип клеток изучен у кольчатых червей сем. Lumbricidae.

В очаге отторжения ксенотрансплантата у дождевых червей Lumbricus terrestris и Eisenia foetida скапливаются малые лимфоциты (тип I) и большие (тип II) лимфоцитоподобные целомоциты (базофилы). Именно с этими клетками связывают процессы деструкции и отторжения чужеродной ткани. Лимфоцитоподобные клетки имеют размер 5–30 мкм и составляют более 60% от всех клеток целомической жидкости. Малые лимфоциты представляют собой овальные или сферические клетки с незначительным количеством цитоплазмы. Среди органелл представлены митохондрии, аппарат Гольджи и шероховатый, эндоплазматический ретикулум. Кроме того, видны дополнительные включения в виде прозрачных вакуолей, темных гранул. Крупное ядро с плотным ядрышком имеет характерную для малых лимфоцитов позвоночных животных впадину.

цифических антигенов трансформируются в макрофагоподобные клеточные формы, осуществляющие собственно лизис чужеродной ткани. Следует заметить, что чисто морфологические наблюдения не могут в полной мере вскрыть истинную картину отторжения. Необходимы дополнительные исследования, в частности, с применением методов иммуногистологии. Однако ясно одно существенное обстоятельство: в процессе отторжения чужеродной ткани принимают участие, по крайней мере, два клеточных типа – макрофагоподобные и лимфоцитоподобные клетки.

8.2.3. Кольчатые черви

Большая выраженность процесса отторжения при ксенотрансплантации по сравнению с аллотрансплантацией у кольчатых червей послужила основным аргументом в пользу использования межвидовых химер для анализа клеточных эффектов реакции несовместимости. При этом подразумевалось, что принципиальных различий в механизме клеточного ответа на алло- и ксенотрансплантаты не существует, а сила реакции зависит исключительно от степени антигенных различий между партнерами по пересадке.

В первые 24 ч после трансплантации происходят концентрация целомоцитов вблизи пересаженной ткани и клеточная инфильтрация трансплантата. В случае с аутотрансплантатом такая инфильтрация прекращается сразу после завершения регенерации поврежденных участков ткани, возникших в результате операционного вмешательства. По завершении воспалительной реакции происходит полное приживление аутологичной ткани. При ксенотрансплантации возрастающая инфильтрация пересаженной ткани целомоцитами хозяина сохраняется до полного ее разрушения. Ускоренное разрушения вторичного ксенотрансплантата связано с большим (в 20–30 раз) количеством клеток, мигрирующих в зону отторжения по сравнению с тем количеством, которое наблюдается при первичном отторжении.

Электронно-микроскопические исследования выявили несколько последовательных этапов развития реакции несовместимости между E. foetida (донор) и L. terrestris (реципиент). В первые три дня наблюдается инфильтрация пересаженной ткани нейтрофилами (макрофагоподобными клетками). По истечении этого времени начинается процесс деструкции внутренних, прилегающих к тканям хозяина мышечных слоев донорского трансплантата. В нейтрофилах видны фрагменты мышечной ткани и крупные фагосомы, количество которых увеличивается к 5-му дню. Через 11–13 дней нейтрофилы мигрируют во внешние мышечные слои трансплантата. На этой стадии реакции отторжения в инфильтрате появляются базофилы (малые лимфоциты), ускоряющие процесс деструкции ткани. При этом, что крайне существенно, ни у ложнооперированных, ни при аутотрансплантации в месте нарушения целостности стенки тела реципиента никогда не наблюдается какого-либо существенного присутствия лимфоцитоподобных клеток.

Таким образом, при ксенотрансплантации у кольчатых червей в реакцию отторжения вступают не только макрофагоподобные клетки, но и лимфоцитоподобные клеточные элементы, хотя их активность и не имеет той степени выраженности, которой характеризуются высшие позвоночные животные.

Несколько более крупные лимфоцитоподобные целомоциты типа II представляют сходную с клетками типа I морфологическую картину. Однако у них больший объем цитоплазмы, которая формирует тонкие псевдоподии, а также увеличено количество внутриклеточных включений. В целом лимфоцитоподобные целомоциты L. terrestris обладают структурным сходством с незрелыми лимфоцитами или НК-клетками позвоночных животных.

9.2.2. Маркеры и рецепторы

Среди маркеров и рецепторов Т-клеток млекопитающих наиболее характерными являются: антиген Thy-1 — маркер всех тимусзависимых лимфоцитов у мышей; рецептор к эритроцитам барана у человека; рецепторы к клеточным митогенам ФГА и Кон А; антигенраспознающий рецептор Т-клеток (Т-клеточный рецептор — ТКР) и, конечно, антигены дифференцировки — корецепторы субпопуляций Т-клеток.

Т-клеточный антигенраспознающий рецептор (ТКР). Определяющим признаком Т-клеток у млекопитающих является наличие мембранного ТКР двух типов: $_{\alpha\beta}$ТКР и $_{\gamma\delta}$ТКР (см. гл. 4).

При работе с антителами к ТКР мышей на лимфоцитах морской звезды обнаружена специфичность, гомологичная β-цепи ТКР. На В-подобных клетках данная специфичность была представлена лучше, чем на Т-подобных клетках. Вполне сенсационной стала работа, выполненная с колониальным оболочником Botryllus schlosseri. У этих животных выделили α,β-гетеродимер, напоминающий ТКР млекопитающих. Однако к этим данным пока следует относиться осторожно, так как они получены серологическим способом и требуют подтверждения с использованием кДНК. До настоящего времени попытки определить гены для ТКР бесчелюстных (круглоротых) и беспозвоночных терпят неудачу.

В то же время при работе с кДНК у всех челюстноротых позвоночных, начиная с хрящевых рыб, выявлены гены, контролирующие домены α, β, γ и δ полипептидов: V_α, C_α, V_β, C_β для $_{\alpha\beta}$ТКР, так же как соответствующие домены для $_{\gamma\delta}$ТКР и комплекса CD3.

В целом α-цепь хрящевых и костных рыб, амфибий и птиц имеет слабую гомологию с соответствующей цепью млекопитающих. При изучении особенностей строения константного домена α-цепи (C_α) ТКР установлена идентичность представителей перечисленных таксонов по А, В и С β-структурам с млекопитающими, значительная укороченность Е и F. Наличие D_β-структуры, свойственной млекопитающим, проблематична. При этом трансмембранная и хвостовая части α-цепи у всех изученных видов позвоночных, включая млекопитающих, высоко гомологичны. Подобный консерватизм необходим для успешного взаимодействия с молекулами комплекса CD3, обеспечивающего сигнальную трансдукцию от ТКР внутрь клетки.

Гены константного домена β-цепи (C_β) изучены у амфибий, хрящевых и костных рыб. В целом C_β-домены всех исследованных животных однотипны, хотя имеются и определенные различия. Так, последовательности 98—120 млекопитающих отсутствуют у всех прочих позвоночных; у Xenopus laevis нет участка для гликозилирования; число C_β-генов варьирует в зависимости от принадлежности к тому или иному таксону. У млекопитающих и аксолотля их 2 или 4, акулы, ве-

роятно, имеют больше C_β-генов, чем скаты, несколько C_β-генов у форели, хотя точное число неизвестно, куры и Xenopus характеризуются одним-единственным геном.

Наибольший интерес представляют V_α- и V_β-гены, как те геномные структуры, которые определяют антигенную специфичность всего $_{\alpha\beta}$ТКР. Общее строение V-доменов от акул до млекопитающих характеризуется определенным однообразием. Как и у млекопитающих, локус для V_α включает собственно V_α-гены и J-сегменты; V_β-домены контролируются собственно V_β-генами, D- и J-сегментами. V_α- и V_β-гены собраны в α- и β-полигенные семейства. Члены одного семейства имеют более 75% гомологии. Число выявленных к настоящему времени семейств V_α у различных таксонов следующее: у разнозубой акулы – 4 семейства, у радужной форели – 6, у аксолотля – 5. D-сегменты отсутствуют, как и у к-цепи Ig. При этом рекомбинационная вариабельность компенсирована повышенным содержанием J_α-генными сегментами (табл. 9.1).

Аналогичная картина организации генетического материала выявлена для V_β-генов. Однако в отличие от V_α-генов, локус, контролирующий V_β-домены, имеет полный набор генных сегментов – VDJ. V-, D- и J-геннные сегменты не собраны в кластеры по схеме: $(VDJ)_1 - (VDJ)_2 - (VDJ)_3 \ldots (VDJ)_n$, как это представлено у примитивных акул, а имеют так называемую транслоконную организацию: V_1-V_2-V_3 ... V_n – D_1-D_2-D_3 ... D_n – J_1-J_2-J_3 ... J_n. C_β-домен, как и Н-цепи Ig, имеет изотипические варианты.

У атлантической трески (Gadus morhua) цепи $_{\alpha\beta}$ТКР экспрессируются на клетках тимуса, селезенки, головной почки. На мембране клеток яичника обнаружена только одна $_\beta$ТКР цепь. Неожиданным является отсутствие экспрессии ТКР на Т-клетках кишечника. Вероятно, подобные отношения существуют и у других видов костистых рыб.

Таблица 9.1.

Число V_α- и V_β-генных семейств и J_α- и J_β-сегментов ТКР у представителей различных классов позвоночных животных

Таксон	Число семейств V_α	Число J_α	Число семейств V_β	Число J_β
Разнозубые акулы	4	–	7	–
Скат (Raja eglanteria)	–	–	4–6	–
Радужная форель (Salmo irideus)	6	32	4	10
Аксолотль (Ambistoma mexicanum)	5	14	13	–
Шпорцевая лягушка (Xenopus laevis)	–	–	11	11

Примечание. Прочерк означает отсутствие данных.

Геномная организация $_{\gamma\delta}$ТКР в целом аналогична той, которой характеризуются $_{\alpha\beta}$ТКР, хотя их общая вариабельность выражена слабее, чем у $_{\alpha\beta}$ТКР, возможно, за счет отсутствия D-сегмента и меньшего числа V-генов и J-сегментов.

Антиген Thy-1. При использовании моноклональных антител и гетерологичной кроличьей антисыворотки к антигену Thy-1 мыши было обнаружено присутствие данной антигенной специфичности на целомоцитах L. terrestris. Структуры, серологически родственные белку Thy-1 грызунов, представлены у моллюсков (улитки, кальмары), рыб, амфибий, рептилий и птиц. Более того, при использовании метода иммуноблотинга была обнаружена специфичность Thy-1 даже у дрожжей и бактерий. Изучена аминокислотная последовательность гомолога Thy-1, выделенного из нервной ткани кальмара. Гликопротеин включает 84 аминокислотных остатка и имеет блок из пяти аминокислот, последовательность которых является уникальной для антигена Thy-1. Таким образом, следует констатировать широкое распространение структур, подобных антигену Thy-1 грызунов, среди беспозвоночных и позвоночных животных. Первоначально данный антиген не был связан только с одним типом клеток. Лишь последующие эволюционные преобразования определили его принадлежность к Т-клеткам. В данном случае важна не эта эволюционная динамика, а тот факт, что антиген Thy-1 представлен как на тимусзависимых клетках млекопитающих, так и на целомоцитах беспозвоночных животных.

Маркеры дифференцировки. Как уже неоднократно говорилось (см. гл. 4), основными маркерами дифференцировки тимоцитов у млекопитающих являются поверхностные белки $CD4^+$ и $CD8^+$, выполняющие функцию корецепторов в процессе распознавания антигена Т-клетками. Из экзотических исследований можно отметить, например, работу по выявлению корецепторов у белухи (Delphinapterius leucas), представителя китообразных. Корецептор CD4 белухи имеет 64 и 51% гомологии с рецепторами человека и мыши соответственно. Наиболее сходны они с CD4 свиньи, собаки и кошки.

Поиски маркеров дифференцировки Т-клеток проводятся и у видов, которые филогенетически ниже уровня млекопитающих. Так, моноклональные антитела (мАТ) против тимоцитов и Ig^- Т-клеток у кошачьего сомика (костистые рыбы) позволили идентифицировать антиген CfT1. Антиген экспрессируется на тимоцитах, субпопуляции лимфоидных клеток в крови, культивируемой Т-клеточной линии, но не представлен на эритроцитах, тромбоцитах, миелоидных клетках, В-клетках и макрофагальной клеточной линии. Стимуляция мононуклеарных клеток крови Т-клеточным митогеном Кон А обеспечивает увеличение числа $CfT1^+$-клеток. Напротив, стимуляция митогеном В-клеток ЛПС приводит к увеличению числа Ig^+-клеток и снижению частоты CfT1-клеток. CfT1 представляет собой одноцепочечный белок с молекулярной массой 35 кДа, выступающий в качестве специфического маркера Т-клеточного пути развития у изученного вида рыб. Другой маркер тимоцитов выявлен у карпа с помощью моноклональных антител WCL9. Маркер обнаружен на 30–50% тимоцитов и отсутствует на лимфоидных клетках крови, пронефроса, селезенки и кишечника. Он представляет собой белок с молекулярной массой 200 кДа. Ряд признаков: экспрессия на тимоцитах коры, но не медуллы, отсутствие экспрессии на Т-клетках периферии, ареактивность к ФГА – митоген зрелых Т-клеток, независимость экспрессии от вспомога-

тельных клеток, позволяет говорить, что WCL9-маркер есть рецептор раннего пути развития тимоцитов. Другое моноклональное антитело – WCL38 – реагирует с 50–70% лимфоидных клеток, выделенных из кишечника, жабер и кожи, и менее чем с 6% клеток тимуса. Антитела WCL38 реагируют только с Т-клетками. Реакция с В-клетками, макрофагами и НК-клетками будет отрицательной. Выявляемый антителами маркер – димерный белок с молекулярной массой 76 кДа; молекулярная масса субъединицы – 38 кДа. При сравнении распределения маркеров $WCL9^+$ и $WCL38^+$ по тканям и органам становится понятным, что они отражают определенные этапы дифференцировки и являются по существу маркерами Т-клеточного пути развития.

У шпорцевой лягушки Xenopus laevis описан и частично охарактеризован антиген СТХ (от англ. cortical thymocytespecific antigen of Xenopus), ген которого локализован в МНС. У личинок и взрослых лягушек СТХ экспрессируется на МНС класса I^-, $CD8^+$, незрелых кортикальных тимоцитах, которые, вероятно, будут эквивалентны субпопуляции незрелых тимоцитов млекопитающих – двойных позитивов $CD4^+CD8^+$. Такие тимоциты Xenopus представляют собой транзиторные клетки и под влиянием митогенов трансформируются в более зрелую субпопуляцию со сниженной экспрессией СТХ и активным синтезом ТКР. По мере созревания СТХ вообще пропадает и тимоциты медуллы свободны от этого антигена. Ясно, что такой антиген может стать инструментом изучения внутритимусной дифференцировки клеток.

У рыб и амфибий документировано наличие гомологичного млекопитающим корецептора CD8.

Взаимодействие клеток с митогенами ФГА и Кон А. У дождевых червей L. terrestris и Eisenia foetida малые лимфоцитоподобные клетки (тип I) способны образовывать розетки с эритроцитами барана. При этом крупные ацидофильные целомоциты фагоцитируют данный корпускулярный антиген. Иначе, по реакции на эритроциты барана малые базофильные клетки проявляют признак Т-клеток млекопитающих, в то время как большие ацидофильные клетки со способностью к фагоцитозу напоминают макрофаги. Количество целомоцитов, способных образовывать розетки с эритроцитами барана, составляет около 9% от всех неприлипающих клеток целомической жидкости.

Другим признаком, позволяющим говорить о наличии Т-подобных лимфоцитов у дождевых червей, является способность целомоцитов L. terrestris и E. foetida отвечать пролиферативной реакцией на митогены Т-клеток. Показано увеличение синтеза ДНК целомоцитами L. terrestris в ответ на стимуляцию ФГА. При фракционировании целомоцитов на прилипающие и неприлипающие к стеклу фракции только неприлипающие лимфоцитоподобные клетки были способны включать тимидин. Однако ответ был более выраженным, если в культуру вносили небольшое количество прилипающих клеток. Этот последний факт демонстрирует, как и у млекопитающих, роль клеточной кооперации при развитии митогензависимого ответа. Целомоциты другого вида дождевых червей E. foetida также способны формировать ответ на Т-клеточные митогены. Максимальная реакция целомоцитов данного вида под воздействием Кон А развивается на четвертые сутки культивирования. При изучении связывания клетками меченного флюоресцеином Кон А установлено, что прилипающие и неприлипающие клетки взаимодействуют с митогеном. Однако неприлипающие клетки, включающие

в основном малые и средние неприлипающие клетки, а также малые и средние лимфоцитоподобные клетки, взаимодействуют с большим количеством Кон А.

Весьма интересны исследования, проведенные с лимфоцитами морской звезды Asterias rubens. Из аксиального органа животных выделяли лимфоциты, которые фракционировали на прилипающие и неприлипающие к нейлоновой вате клетки. Установлено, что неприлипающая популяция лимфоцитов способна отвечать пролиферацией на Т-клеточные митогены. В то же время прилипающие к нейлоновой вате клетки реагируют на В-клеточные митогены (ЛПС, экстракт из Nocardia opaca). Эти исследования представляют особый интерес, так как в них предпринята попытка обнаружить у иглокожих две основные лимфоидные популяции, гомологичные Т- и В-клеточным популяциям человека (неприлипающие и прилипающие к нейлоновой вате соответственно).

Первые опыты по аллотрансплантационному отторжению у беспозвоночных, начатые в 1960-х и продолженные в 1970-х годах, сразу же выдвинули вопрос о клетках-эффекторах несовместимости. Гистологические наблюдения, указывающие на инфильтрацию пересаженной ткани лимфоцитоподобными клетками, позволили предположить, что именно эти клетки функционально гомологичны Т-клеткам млекопитающих. Однако одной гистологии было явно недостаточно. Требовались дополнительные факты, которые могли бы пролить свет на природу клеток, участвующих в отторжении аллотрансплантата у беспозвоночных животных. Обнаружение Thy-1 антигена (маркера Т-клеток млекопитающих), мест связывания для Т-клеточных митогенов и положительная реакция клеток беспозвоночных на эти митогены, а также структур, напоминающих ТКР, и хорошо документированных генов, контролирующих ТКР челюстноротых позвоночных животных, позволяют предполагать, что у первично- и вторичноротых беспозвоночных уже имеются клетки, подобные Т-лимфоцитам млекопитающих. Иначе говоря, еще до эволюционного формирования тимуса как самостоятельной морфологической структуры некоторые признаки Т-клеток млекопитающих оказываются предетерминированы у низкоорганизованных, бестимусных животных.

Исследователи, изучающие вопросы сравнительной иммунологии, склонны называть лимфоцитоподобные клетки натуральными киллерами (НК-клетками), подчеркивая тем самым полную самостоятельность этих клеток от лимфоцитов. Однако строгого разрыва между двумя типами клеток проводить нельзя. В частности, у млекопитающих обнаружена популяция НК Т-клеток, обладающая как признаком НК-клеток (наличие маркера CD56), так и функциональным маркером Т-клеток (CD3), что само по себе говорит об онтогенетической и филогенетической преемственности между этими двумя типами клеток. Введение понятия лимфоцитоподобная клетка как раз и отражает эту структурную и функциональную преемственность.

9.2.3. Сравнительная характеристика функциональной активности Т-клеток

Вполне очевидно, что о зрелости клеток организма следует судить по тому, насколько эффективно реализуют генетически детермированную функцию тот или иной тип клеток, насколько быстро клетки отвечают на сигналы к осуществлению

предопределенной активности. По отношению к Т-клеткам как единой популяции Т-системы иммунитета показателями полноценности функционального проявления служат:

1) эффективность распознавания антигенно чужеродного материала;

2) скорость мобилизации (через пролиферацию и дифференцировку) клона или клонов Т-клеток в ответ на внешние антигенные сигналы;

3) выраженность регуляторной (хелперной и супрессорной) активности;

4) способность к сохранению специфической отвечаемости в виде формирования клеток памяти или сохранения реактивности в системе адоптивного переноса;

5) участие в реакциях клеточного взаимодействия;

6) продукция молекулярных регуляторов (цитокинов) клеточного и гуморального иммунного реагирования.

Ясно, что этот перечень функциональных отправлений Т-клеток формировался в эволюции постепенно от своего зачаточного проявления у менее организованных форм к выраженному, генерализованному ответу у более совершенных таксономических групп.

Ответ лимфоцитов на Т-клеточные митогены. Выше были рассмотрены факты, указывающие на принципиальную возможность лимфоцитов беспозвоночных отвечать на Т-клеточные митогены, демонстрируя тем самым наличие у этих животных Т-подобных лимфоцитов. В данном разделе представлены известные факты о реакции лимфоцитов позвоночных животных на тот же класс митогенов.

Лимфоциты наиболее примитивных позвоночных, каковыми являются круглоротые и хрящевые рыбы, способны отвечать пролиферацией на ФГА и Кон А. Однако этот ответ требует большей дозы митогена по сравнению с ответом Т-клеток млекопитающих. Уровень пролиферативной активности при этом у них ниже, чем у высших позвоночных животных. Например, нефракционированная популяция лимфоцитов периферической крови акул не отвечает на большой диапазон доз ФГА (от 1 до 500 мкм/мл). Относительно незначительный пролиферативный ответ на данный митоген зарегистрирован в одной из трех выделенных на фиколе фракций клеток. В больших дозах Кон А обеспечивает митотическую активность всех трех клеточных фракций акул. Однако их отвечаемость к Т-клеточным митогенам незначительна. Напомним, что Т-клетки млекопитающих развивают сильный ответ при использовании обычных рабочих доз Кон А, равных 3–10 мкм/мл.

Лимфоциты костистых рыб (Teleostei) лучше реагируют на митогены Т-клеток, хотя и требуются повышенные их концентрации. В одной из работ этой серии в качестве объекта исследований были взяты лимфоциты ушастого окуня (Lepomis macrochirus). Клетки, выделенные из тимуса, передней почки, селезенки и периферической крови, фракционировали в градиенте плотности фикол-гепака и определяли способность каждой из фракций отвечать на Т- и В-клеточные митогены. Лимфоциты одной из фракций реагировали на ФГА и Кон А, но не ЛПС. Эти же лимфоциты лизировались антителами к антигену мозга. По этим двум признакам лимфоциты данного вида рыб напоминают Т-клетки млекопитающих. При фракционировании лимфоцитов периферической крови канального сомика (Ictalurus punctatus) на Ig^+- и Ig^--субпопуляции установлена способность Ig^--лимфоцитов отвечать на Кон А. Однако для полноценного ответа требуется присутствие в основной отвечающей популяции прилипающих к стеклу, фагоци-

тирующих мононуклеаров (макрофагов). Данное исследование, как и предыдущее, указывает на наличие у проанализированного вида рыб самостоятельной Т-клеточной популяции (Ig^-, Кон A^+).

В другом исследовании с тем же самым видом рыб была изучена способность Т- и В-лимфоцитов взаимодействовать с Кон А. Как Т-, так и В-клетки связывали митоген. Однако только Т-клетки вступали в митоз после взаимодействия с митогеном. Уровень пролиферации возрастал в 4–10 раз по сравнению с контролем. Подобная достаточно высокая митотическая активность регистрировалась только при использовании относительно большой дозы Кон А – 30–40 мкг/мл. Следует заметить, что у млекопитающих способность связывать Кон А присуща как Т-, так и В-клеткам. При этом в ответную реакцию, подобно рыбам, вступают только Т-клетки.

Лимфоциты амфибий аналогично лимфоцитам различных классов рыб отвечают на классические митогены Т-клеток – ФГА и Кон А, хотя интенсивность такого ответа у хвостатых и бесхвостых амфибий различна. Клетки селезенки аксолотля (Ambistoma mexicanum) развивают положительный ответ на ФГА и Кон А, но ниже чем у млекопитающих. В то же время ответ клеток селезенки Xenopus laevis вполне сопоставим с аналогичным ответом мышей. При этом лимфоциты печени оказываются ареактивными к Кон А. Возможно, что рецепторы к двум этим митогенам у данного вида представлены на различных субпопуляциях клеток, одна из которых (Кон A^+) отсутствует в паренхиме печени. Тимэктомия X. laevis в раннем личиночном возрасте резко снижает ответ клеток селезенки к Т-клеточным митогенам. Реконструкция тимэктомированных животных изогенным или аллогенным тимусом восстанавливает пролиферативный ответ клеток селезенки. Тимоциты личинок X. laevis ареактивны к ФГА и Кон А, но приобретают способность к полноценному ответу после созревания.

В целом у бесхвостых амфибий реакция лимфоцитов на классические Т-клеточные митогены выражена вполне удовлетворительно, что указывает на полноценное (по данному признаку) представительство Т-клеток и их функциональную зрелость у данной группы животных.

Достаточно хорошо развитый, структурированный тимус рептилий a priori позволяет говорить о наличии у данного класса позвоночных животных хорошо представленной Т-клеточной популяции.

Одним из проявлений функциональной зрелости Т-клеток является их ответ на соответствующие митогены. Так, неприлипающие к стеклянной вате лимфоциты периферической крови аллигатора (Alligator mississippiensis) развивают полноценный ответ на ФГА, но остаются ареактивными к В-клеточному митогену – ЛПС. У зеленой черепахи (Chelonia mydas) лимфоциты дают полноценный бластогенный ответ как на ФГА, так и на Кон А. Параллельно выявлены индивидуальные колебания в силе пролиферативного ответа на данный митоген, но при этом отмечено отсутствие вариабельности в зависимости от времени года, температуры окружающей среды или возраста черепахи.

Наличие среди лимфоцитов птиц и млекопитающих клеток, реагирующих на Т-клеточные митогены, является давно установленным фактом. При использовании незначительных доз митогена сильный бластогенный ответ Т-клеток этих животных развивается на 3–5-й день культивирования. Подсчитано, что для максимального пролиферативного ответа количество занятых митогеном участков

на поверхности Т-клеток не должно превышать 3–10% от общего количества мест связывания. Взаимодействие митогена с Т-клетками происходит через олигосахариды клеточной поверхности, которые входят в состав различных мембранных белков, и именно по этой причине говорить о специфических рецепторах к данным лигандам нельзя. Как Т-, так и В-клетки сорбируют митогены, но только Т-лимфоциты дают полноценную ответную реакцию в виде бласттрансформации. Для активации В-клеток требуются особые условия, такие, например, как сшивка митогена с соответствующими антителами или присоединение его к гранулам сефарозы.

Реакция в смешанной культуре лимфоцитов. Реакция в смешанной культуре лимфоцитов (СКЛ) развивается при различиях по антигенам гистосовместимости между взаимодействующими клетками. В конкретной экспериментальной работе обычно используют однонаправленную СКЛ, когда пролиферативная активность клеток одного генотипа подавляется либо облучением, либо ингибитором митотического деления, а в ответ на чужеродные антигены вступают только клетки второго генотипа. Однако иногда используют и двунаправленную СКЛ. В этих условиях происходит взаимное распознавание антигенов гистосовместимости, а бластогенный ответ значительно превышает однонаправленную реакцию. В основе реакции лежит способность Т-клеточных рецепторов (ТКР) отвечающих клеток распознавать антигены гистосовместимости стимулирующих клеток. В результате распознавания чужеродных антигенов предшественники цитотоксических Т-лимфоцитов (пЦТЛ) дифференцируются в функционально зрелые клетки. Одновременно в реакцию вступают предшественники Т-хелперов, которые способствуют успешной дифференцировке ЦТЛ.

Обнаружение у той или иной группы животных способности их лимфоцитов реагировать в СКЛ будет указывать на возможное присутствие в лимфоидной популяции Т-клеток, обладающих поверхностными структурами с антигенраспознающей функцией, хотя и не обязательно их отношение к классическим ТКР.

При изучении вопроса о способности клеток аксиального органа морских звезд Asterias rubens и Marthasterias glasialis в СКЛ не удалось установить аллогенного ответа. В то же время при ксеногенных различиях между взаимодействующими клетками регистрируется полноценный ответ с индексом стимуляции около 7,0. Отсутствие реакции в аллогенной СКЛ вовсе не означает, что лимфоциты иглокожих ареактивны по отношению к аллоантигенам. Как уже отмечалось, животные данного класса отличают «свое» от «чужого» в реакции трансплантационного отторжения и формируют память после первичного контакта с чужеродностью. Обнаружение же у Asterias rubens поверхностного белка, сходного с β-цепью ТКР млекопитающих говорит в пользу принципиальной возможности к аллораспознаванию. Ареактивность в алло-СКЛ морских звезд может быть связана либо со слабой аффинностью ТКР, либо с незначительной клональной экспансией антигенраспознающих клеток.

В первых опытах с круглоротыми не удалось обнаружить способности тихоокеанской миксины (Eptatreus stoutii) к бластогенезу в СКЛ. Однако в более поздних исследованиях выявлен достаточно показательный ответ в СКЛ у того же вида миксин. Возможно, эти различия связаны с температурным режимом содержания в условиях лаборатории. Эффекторами реакции являются малые лимфоциты, выделенные на колонке с сефадексом G-10. Прилипающая к сефадексу популяция

макрофагоподобных клеток не способна отвечать на аллоантигены, но выступает в качестве стимулятора реакции. У другого представителя класса круглоротых – миноги (Petromyson marinus), лимфоциты развивают лишь слабую реакцию на аллоантигены. Недостаточно хорошо выражена реакция на аллоантигены у хрящевых рыб, что установлено при работе с лимфоцитами морского ската (Dasyatis pastinaca), а также веслоноса (Poliodon spatula), относящегося к примитивным костным рыбам надотряда ганоидных. В объяснении слабой реактивности лимфоцитов данных таксономических групп могут быть использованы те же аргументы, что и при анализе реактивности клеток аксиального органа морских звезд.

У костистых рыб реакция в СКЛ выявляется легче, чем у предыдущих таксонов. При изучении способности лейкоцитов периферической крови карпа реагировать на аллоантигенные различия в одно- и двунаправленной СКЛ получены следующие результаты. Ответ в однонаправленной СКЛ вполне положительный, хотя и слабее, чем в двунаправленной. Как и следовало ожидать, реактивность между клетками особей, относящихся к одной и той же популяции, имеет меньшую выраженность, чем между клетками особей разных популяций. Положительную реакцию на аллоантигены развивают также лимфоциты периферической крови другого вида костистых рыб – стальноголового лосося (Salmo gairdneri).

У помацентра (Pomacentrus sp.) клетки селезенки как копартмента более зрелых лимфоцитов развивают реакцию на аллоантигены в отличие от клеток пронефроса – места локализации менее зрелых клеточных форм.

Как и в случае с млекопитающими, реакцию в СКЛ у рыб осуществляют Т-клетки, что подтверждают, в частности, следующие наблюдения. Та субпопуляция, которая отвечает на ФГА и Кон А, одновременно развивает пролиферативную ответ на аллоантигены в СКЛ. В то же время субпопуляция, отвечающая на ЛПС, оказывается ареактивной в СКЛ. При анализе клеток крови периферической крови полосатой зубатки (Anarhichas lupus) получены аналогичные результаты. sIg^--клетки (Т-клетки) формировали выраженный пролиферативный ответ в СКЛ, sIg^+-клетки (В-клетки) оставались ареактивными.

Положительное развитие реакции в СКЛ у амфибий – достаточно давно установленный факт, хотя интенсивность аллогенного реагирования у представителей разных отрядов класса неодинакова. Так, у хвостатого земноводного аксолотля (Ambistoma mexicanum) лимфоциты от разных инбредных линий, различающихся по антигенам главного комплекса гистосовместимости, развивают относительно слабую реакцию. В то же время у бесхвостой амфибии – жабы ага (Bufo marinus), аллоантигенный ответ хорошо выражен и приближается по индексу стимуляции к млекопитающим. Аллореактивные Т-клетки, способные к развитию сильной реакции в СКЛ, представлены и у другого вида бесхвостых амфибий – шпорцевой лягушки (Xenopus laevis). Однако генерации цитотоксических Т-лимфоцитов (ЦТЛ) в первичной СКЛ у этого вида не происходит. Для успешного накопления ЦТЛ в аллогенной культуре необходима предварительная сенсибилизация in vivo донора отвечающих клеток соответствующими аллоантигенами. Уровень пролиферативной активности лимфоцитов X. laevis таков, что позволяет анализировать различия не только по основным антигенам гистосовместимости, но и по минорным аллоантигенам. В целом можно заключить, что Т-лимфоциты амфибий и особенно бесхвостых амфибий обладают достаточно эффективной системой рас-

познавания трансплантационных антигенов и способностью к формированию выраженной ответной реакции в СКЛ.

Иммунная система рептилий в морфологическом и функциональном отношениях представлена достаточно полно и сопоставима с таковой птиц и млекопитающих. Отражением такой морфофункциональной зрелости является способность лимфоцитов представителей данного класса развивать полноценный ответ на аллоантигенный стимул в СКЛ. Однако если у гомойотермных птиц и млекопитающих подверженность иммунной реактивности сезонным колебаниям выражена слабо или отсутствует (за исключением нескольких видов, впадающих в спячку), то у рептилий напряженность иммунного ответа в значительной степени связана со временем года. Например, клетки селезенки ящерицы Chalcides ocellatus развивают максимальный ответ на аллоантигены в августе–сентябре. В октябре–ноябре наблюдается уменьшение ответа. Полная депрессия реакции характерна для зимних месяцев. У змеи Psammophis sibilans клетки селезенки развивают сильный пролиферативный ответ на аллоантигены весной и в начале лета. В другие месяцы года реакция в СКЛ либо резко снижена, либо полностью отсутствует. Полноценная реакция в алло-СКЛ описана также для аллигаторов и зеленой черепахи.

Взаимодействие клеток и функциональная гетерогенность лимфоцитов. Как клеточный, так и гуморальный иммунные ответы представляют собой комплексные процессы, развивающиеся в результате взаимодействия различных типов клеток (Т-, В-лимфоцитов, макрофагов, дендритных клеток, нейтрофилов и др.).

Эволюционно комплекс реакций специфического иммунитета, свойственный млекопитащим, формировался постепенно. Однако уже на ранних этапах филогенеза проявляется один из механизмов иммунной реактивности, а именно взаимодействие клеток. Иллюстрацией этому положению служат исследования, выполненные с клетками аксиального органа морской звезды Asterias rubens. У данного вида иглокожих имеются Т-подобные (неприлипающие к нейлоновой вате) и В-подобные (прилипающие к нейлоновой вате) лимфоциты, которые способны к продукции индуцируемого фактора с антителоподобной активностью. В опытах in vitro показано, что для индукции фактора необходимо взаимодействие трех клеточных типов: Т-, В-подобных лимфоцитов и макрофагов. Разрушение ультразвуком В-подобных лимфоцитов приводит к полной отмене продукции фактора. В то же время замена нативных Т-подобных лимфоцитов в системе клеточной кооперации на мембраны этих клеток сохраняла накопление фактора в культуре, хотя и в сниженном количестве.

При исследовании гетерогенности лимфоцитов у животных различных таксономических групп с выделением клеток, выполняющих Т-хелперную функцию, был использован целый ряд экспериментальных моделей. Одна из них связана с изучением типов клеток, реагирующих на комплекс гаптен–носитель. Известно, что у мышей В-клетки реагируют на гаптен, а Т-клетки – на носитель.

Обращение исследователей, занятых изучением вопросов сравнительной иммунологии, к системе гаптен–носитель преследовало цель выяснить: обладают ли лимфоциты филогенетически далеко отстоящих от млекопитающих групп животных гетерогенностью по признаку Т-, В-клеток. Положительное решение данного вопроса указывало бы на сам факт наличия Т-клеток и возможность процесса клеточной кооперации при формировании иммунного ответа.

Изучение реакции на комплекс гаптен–носитель у круглоротых и различных классов рыб дало неоднозначные результаты. Так, лимфоциты ручьевой миноги не способны дифференцировать различные участки комплекса гаптен–носитель. Отрицательный материал получен и при работе с лимфоцитами акулы-няньки. Однако лимфоциты нескольких видов костных рыб отличают носитель от гаптена, проявляя тем самым гетерогенность по признаку Т-, В-клеток.

Результаты этих исследований указывают на наличие у костных рыб как Т-, так и В-лимфоцитов, способных к взаимодействию при формировании иммунного ответа. Этот вывод особенно поддерживается опытами in vitro с лимфоидными популяциями, разделенными на прилипающие (В-клетки) и неприлипающие (Т-клетки) к нейлоновой вате. Здесь же следует заметить, что отсутствие способности лимфоцитов круглоротых и хряшевых рыб реализовывать феномен гаптен–носитель вовсе не говорит об отсутствии у представителей этих таксонов Т-клеток, но лишь указывает на недостаточно эффективную антигенсвязующую функцию рецепторов этих клеток при взаимодействии с носителем.

Установлено, что в системе in vitro полноценная продукция антител к гаптену (ТНФ), коньюгированному с тимусзависимым носителем (гемоцианином), у канального сомика (Ictalurus punctatus) возможна только при кооперации трех клеточных типов: лимфоцитов, специфичных к гаптену и имеющих поверхностный иммуноглобулин (sIg^+-лимфоциты, т.е. В-клетки); лимфоцитов, специфичных к носителю и не имеющих поверхностного иммуноглобулина (sIg^--лимфоциты, т.е. Т-клетки); и моноцитов.

Представленные исследования, как и приведенные выше, ясно указывают на наличие у канального сомика, по крайней мере, двух популяций лимфоцитов – Т- и В-клеток.

Необходимость клеточной кооперации у рыб установлена не только при гуморальном иммунном ответе, но и при формировании Т-клеточной формы реагирования. Так, sIg^--лимфоциты канального сомика отвечают на Т-клеточные митогены – ФГА и Кон А, только в присутствии фагоцитирующих мононуклеаров. При этом ответ sIg^+-лимфоцитов на ЛПС является автономным и не требует дополнительной клеточной помощи. Фагоцитирующие мононуклеары в качестве вспомогательной клеточной популяции принимают участие и в реакции Т-клеток на аллоантигены.

Вероятно, рыбы обладают не только Т-хелперами, но и Т-супрессорами. Об этом, в частности, говорят результаты следуюших исследований. При иммунизации стальноголового лосося (Salmo gairdneri) большой дозой эритроцитов карася (Carassius auratus) наблюдается резкое падение уровня антител по сравнению с группой рыб, которые получали умеренную дозу данного антигена. Состояние частичной ареактивности развивается и к другим гетерологичным антигенам (эритроциты барана, бактерии Aeronomas salmonicida). Депрессия иммунного ответа сопровождается снижением фагоцитарной активности клеток перитонеального экссудата. Состояние частичной ареактивности продолжается около трех недель. Предполагается, что толерогенный статус в данных экспериментальных условиях обеспечивается индукцией неспецифических супрессорных клеток.

У амфибий, так же как и у рыб, воспроизводится феномен гаптен–носитель, в котором именно Т-клетки с хелперной активностью распознают носитель в комплексном антигене. Такое заключение подтверждается, в частности, следующими

экспериментальными результатами. Вторичный анти-ТНФ-ответ у тритона Triturus viridescens наблюдается только в том случае, если для повторной иммунизации был использован тот же комплекс гаптен—носитель. Таким комплексным антигеном был конъюгат ТНФ с эритроцитами барана. Смена носителя на эритроциты лошади при повторной иммунизации отменяла вторичный анти-ТНФ-ответ. Тот факт, что у амфибий носитель распознается Т-клетками, был дополнительно продемонстрирован в опытах с тимэктомией при использовании антитимоцитарной сыворотки.

Анализ взаимодействия Т- и В-клеток у амфибий обогащен данными о роли антигенов гистосовместимости в клеточной кооперации. Феномен гаптен—носитель был воспроизведен у X. laevis в опытах Т-клетками, примированными к носителю, и В-клетками, примированными к гаптену. Антитела изотипа IgY, которые являются высокотимусзависимыми, и высокоаффинные IgM-антитела обнаруживались в культуре только в условиях, когда Т- и В-клетки имели, по крайней мере, один общий гаплотип. При этом продукция низкоаффинных IgM не нарушалась в условиях генетических различий по МНС между взаимодействующими клетками.

Интересны результаты исследований с тимэктомированными лягушками. Реконструкция тимэктомированных животных одного гаплотипа (a/c) стромой тимуса животных другого гаплотипа (b/d) обеспечивает взаимодействие Т-клеток, полученных от реконструированных доноров гаплотипа a/c, с В-клетками доноров гаплотипа b/d, как со своими собственными. Результаты этих экспериментов, так же как и результаты опытов с формированием эффекторов трансплантационного отторжения, демонстрируют факт положительной селекции в стромальном микроокружении тимуса, т.е. отбора клеток, способных взаимодействовать только с теми антигенами МНС, которые они распознали на клетках стромы данного органа.

Т-клетки с хелперной активностью обнаружены у X. laevis как в тимусе, так и в селезенке. В тимусе эти клетки локализуются в коре, что подтверждается следующими опытами. Животным перед иммунизацией вводили N-метил-N-нитрозомочевину, разрушающую тимоциты в коре тимуса и тимусзависимых зонах селезенки. Внесение в органную культуру селезенки тимуса, обработанного данным соединением, приводит к резкому подавлению иммунного ответа. Основываясь на этих достаточно простых, но показательных опытах, делается заключение, что кора является местом доминирующего формирования Т-хелперов, в то время как медуллярная зона — место локализации Т-супрессоров. Супрессорную активность тимоцитов удалось продемонстрировать в опытах с культурой Т- и В-клеток. Внесение в такую культуру тимоцитов, полученных после фильтрации через нейлоновую вату, резко подавляло синтез антител.

Таким образом, Т-клеточный комплекс амфибий, по всей видимости, содержит как Т-хелперы, так и Т-супрессоры, что наглядно демонстрируется в функциональных тестах.

У рептилий явления клеточной кооперации и Т-хелперной активности выявлены в опытах in vivo при использовании в качестве антигена комплекс гаптен—носитель. Известно, что низкие дозы антигена при первичной иммунизации активируют специфические Т-хелперы. Такая первичная активация обеспечивает усиленный ответ к гаптену, конъюгированному с носителем, который использовался для первичного примирования. Модель селективной активации Т-хелперов

носителем использована при работе с ящерицей-кровососом Calotes versicolor. Предварительное примирование животных интактными или формализированными эритроцитами барана обеспечивало резкое увеличение синтеза антител к ТНФ, если повторная иммунизация проводилась комплексом ТНФ–эритроциты барана, но не ТНФ, ассоциированный с другим носителем. Была также установлена роль клеток, реагирующих на носитель, в подавлении миграции макрофагов in vitro. В качестве примирующего in vivo антигена использовался комплекс ТРФ–овальбумин. Внесение этого комплекса в систему миграции клеток из капилляра in vitro вызывает подавление распространения клеток. Это подавление специфично, так как не воспроизводится при внесении в культуру конъюгата ТНФ–бычий сывороточный альбумин. Как и у млекопитающих, генерация клеток с хелперной активностью является функцией тимуса, о чем свидетельствуют опыты с тимэктомией. Удаление тимуса у взрослых животных препятствует формированию клеток, способных реагировать на носитель.

Помимо Т–В-взаимодействия, где Т-клетки выполняют хелперную функцию, известна форма взаимодействия эффекторных Т-клеток с макрофагами (МФ). Т–МФ-кооперация выявлена, например, в реакции СКЛ у змеи Psammophis sibilans. Свободная от фагоцитирующих мононуклеаров популяция Т-клеток слабо реагирует на аллоантигены. В то же время реакция восстанавливается при реконструкции культуры макрофагами.

9.2.4. Цитокины

Явление клеточного взаимодействия при формировании иммунного ответа подразумевает наличие клеточных гуморальных факторов, реализующих это взаимодействие. У млекопитающих выявлен целый набор цитокинов (более 30), которые обеспечивают регуляцию функциональной активности клеток иммунной системы.

Сравнительная иммунология пока не может похвастаться теми успехами в исследовании иммуноцитокинов, которые достигнуты при изучении данной группы белков у млекопитающих, хотя определенные усилия в этом направлении предприняты и касаются главным образом рыб и амфибий. Однако гуморальная регуляция иммунных процессов характерна не только для позвоночных животных, но и для беспозвоночных.

В данном разделе будут представлены примеры, касающиеся цитокинов или цитокинподобных факторов, продуцируемых как Т-клетками, так и иными клеточными типами, но действующими на Т-клетки как мишени.

Интерлейкин-1 (ИЛ-1). Основной экспериментальный прием при изучении активности ИЛ-1-подобных факторов состоит в получении супернатанта от ЛПС-стимулированных фагоцитирующих клеток с последующим анализом интенсивности пролиферации клеток, стимулированных субоптимальной дозой Т-клеточных митогенов. Используя данный прием, из целомической жидкости и разрушенных целомоцитов морской звезды (тип иглокожих) был выделен ИЛ-1-подобный белок с молекулярной массой 30 кДа, который костимулировал пролиферацию тимоцитов и фибробластов млекопитающих. Моноклональные антитела (мАТ), специфичные к рецептору ИЛ-1 (ИЛ-1R) человека, взаимодействуют

с соответствующим гомологом на клетках аксиального органа морской звезды. ИЛ-1-подобная активность обнаружена также у оболочников, двустворчатых и брюхоногих моллюсков. Иммуногистохимически показано, что антитела к ИЛ-1 млекопитающих выявляют в гранулярных клетках большой восковой моли (Galleria mellonella) соответствующий интерлейкинподобный фактор.

ИЛ-1-подобные факторы, выделенные из супернатанта обработанных ЛПС моноцитов рыб, так же как ИЛ-1 млекопитающих, могут замещать вспомогательные клетки в культуре пролиферирующих Т-клеток рыб. ИЛ-1-подобный белок с молекулярной массой 70 кДа был обнаружен также у кошачьего сомика. При клонировании гена ИЛ-1b от радужной форели показана его идентичность соответствующему гену млекопитающих с уровнем гомологии 47—57%. Уровень гомологии между ИЛ-1a и ИЛ-1b млекопитающих равен всего 25%. Экспрессия гена ИЛ-1b радужной форели увеличивается после ЛПС-стимуляции лейкоцитов рыб. У карпа был определен полный ген ИЛ-1b, состоящий из 2455 п.н. и включающий семь экзонов. Преимущественная экспрессия этого гена регистрируется в головной почке и селезенке. Стимуляторы лейкоцитов ПМА и ЛПС обеспечивают завершенный сплайсинг (слияние) соответствующей пре-мРНК. Как и у млекопитающих, включение гена ИЛ-1b зависит от ядерного фактора (фактора транскрипции) NF-kB. Ген ИЛ-1b у морского окуня (Dicentrarchus labrax) состоит из 1292 п.н. и контролирует белок с молекулярной массой 29,4 кДа. Наиболее выраженная экспрессия ИЛ-1b наблюдается в лейкоцитах крови, головной почке, селезенке, жабрах, но не в тимусе и лимфоидной ткани кишечника. Изучение аминокислотной последовательности ИЛ-1b морского окуня выявил достаточно высокую степень гомологии с соответствующим цитокином радужной форели (62%), карпа (45,5%) и шпорцевой лягушки (46%).

У амфибий и птиц в супернатанте стимулированных ЛПС лейкоцитов также накапливается ИЛ-1-подобный цитокин. Клонированный куриный рецептор ИЛ-1 имеет 61% гомологии с мышиным гомологом. Цитоплазматические домены сравниваемых рецепторов характеризуются более высокой гомологией, равной 76%. Дополнительно в цитоплазматической части рецептора имеются четыре блока, сходных с цитоплазматическим хвостом Toll-рецептора дрозофил, который запускает синтез антибактериальных и антигрибковых пептидов. Эти открытия послужили основой для гипотез об общности происхождения иммунных систем позвоночных и беспозвоночных животных.

В целом кажется, что цитокин ИЛ-1 эволюционно достаточно консервативен: а) нет или слабо выражен видовой барьер; например, ИЛ-1 или ИЛ-1-подобные молекулы, полученные от морских звезд, насекомых, рыб проявляют свою стимулирующую активность по отношению к клеткам млекопитающих; б) часто встречается перекрестная реакция антисыворотки к ИЛ-1 человека с клетками филогенетически удаленных видов; в) имеется достаточно высокая степень гомологии на пептидном и нуклеотидном уровнях между видами.

Интерлейкин-2 (ИЛ-2). Стимуляция Т-клеток, тимоцитов или перевиваемых, долгоживущих Т-клеточных линий приводит к накоплению в супернатанте ИЛ-2. Функциональную активность такого интерлейкина можно проверить в системе in vitro по пролиферации Т-клеток, стимулированных митогеном или антигеном.

У морских звезд в ксеногенной СКЛ, составленной из неприлипающих (Т-подобных) клеток аксиального органа Asterias rubens и нефракционированных кле-

ток того же органа Marthasterias glacialis, накапливается гликопротеин с митотической активностью. Фактор вызывает пролиферацию смеси прилипающих и неприлипающих клеток аксиального органа, но не оказывает какого-либо действия на отдельные субпопуляции. Поскольку фактор продуцировался неприлипающей, Т-подобной субпопуляцией клеток и обладал ростовыми свойствами, то высказано предположение о его филогенетической связи с интерлейкином-2 (ИЛ-2) млекопитаюших.

Возможное наличие ИЛ-2 и рецептора (ИЛ-2Р) к нему в клетках аксиального органа морских звезд было показано с помощью моноклональных антител к ИЛ-2 и ИЛ-2Р человека. Кроме того, получены данные о наличии ИЛ-2-подобных факторов у двух видов моллюсков: Planobarius corneus и Viviparus ater.

ИЛ-2-подобная активность обнаружена у низших позвоночных животных: лососевых и карповых рыб. Лейкоциты крови и головной почки стальноголового лосося (Salmo gairdneri) культивировали в присутствии митогена 48—72 ч, что приводило к накоплению в супернатанте гуморального фактора. Внесение этого фактора в культуру макрофагов дозозависимым образом вызывало усиление их активности: распластывание и прилипание к стеклу. Аналогичная ИЛ-2-подобная активность обнаружена у карпа (Cyprinus carpio). Супернатант от ФГА-стимулированных или реагирующих в СКЛ лимфоцитов способен усиливать пролиферацию лимфобластов. Очевидно, что такие лимфобласты имеют рецепторы к Т-клеточному ростовому фактору, поскольку предварительная инкубация супернатанта с лимфобластами снимает митотическую активность культуральной среды.

При использовании экспериментальных подходов, близких или идентичных тем, которые применялись при работе с рыбами, у амфибий также обнаружен фактор Т-клеток, обеспечивающий клеточную пролиферацию. Лимфоциты селезенки или тимуса X. laevis культивировали в присутствии ФГА, Кон А или аллоантигенов. В результате накапливался фактор, стимулировавший пролиферацию тимоцитов или спленобластов. Активированные клетки селезенки, как и в случае с лимфобластами карпа, способны сорбировать ростовой фактор, демонстрируя тем самым наличие рецепторов к этому фактору. Между Т-клеточным фактором лягушек,с одной стороны, и Т-клеточным фактором человека и мыши, с другой, существует ксеногенный, функциональный барьер. В то же время показано, что рекомбинантный ИЛ-2 человека активен в отношении иммунного процесса у X. laevis. Индуцированная у половозрелых лягушек гаптенспецифическая толерантность к ТНФ-фиколу или ТНФ-поливинилпиролидону отменяется введением ИЛ-2 человека. Вероятно, эта отмена реализовалась через процесс активации Т-хелперов или фагоцитирующих мононуклеаров.

У рептилий, так же как у рыб и амфибий, обнаружена ИЛ-2-подобная активность. Из супернатанта стимулированных Кон А лимфоцитов змеи Spalerosophis diadema была выделена фракция с гуморальной активностью Т-клеток. По функциональной активности и по молекулярной массе эта фракция соответствовала ИЛ-2 млекопитающих.

У кур при работе с кДНК определен ген ИЛ-2, который экспрессируется только в Кон А-стимулированных клетках селезенки. Рекомбинантный цитокин обеспечивает активный рост Т-клеток селезенки и повышение активности НК-клеток. Подкожная инъекция ИЛ-2 кДНК в составе плазмиды увеличивает экспрессию на Т-клетках $CD3^+$, $CD4^+$, $CD8^+$, $ТКР^+$. В целом ИЛ-2 кур выступа-

ет в качестве активного ростового фактора, потенциально способного к усилению специфического Т-клеточного иммунитета.

Другие цитокины. Помимо ИЛ-1- и ИЛ-2-подобных факторов, у низших позвоночных животных обнаружен фактор, ингибирующий миграцию макрофагов (МИФ). Данный фактор выделяется примированными лимфоцитами в ответ на антигенный стимул и, обладая хемотаксическими свойствами, обеспечивает концентрацию макрофагов в зоне проникновения антигена. В условиях in vitro активность фактора оценивается по подавлению миграции макрофагов из капилляра.

При работе с клетками головной почки стальноголового лосося (S. gairdneri), иммунизированного эритроцитами барана, показано, что лимфоциты почек после введения в культуру соответствующего антигена выделяют фактор, который подавляет миграцию макрофагов на 50%.

Аналогичные результаты получены при работе с примированными клетками селезенки Rana temporaria. МИФ травяной лягушки на электофореграммах занимал зону, соответствующую белкам с молекулярной массой 27–50 кДа. Фактор не обладал видовой специфичностью и ингибировал миграцию клеток перитонеального экссудата не только близкого вида X. laevis, но и рыб.

Известно, что интерферон-α (ИФН-α), образуемый лейкоцитами, и ИФН-β, образуемый вирусинфицированными фибробластами (ИФН тип I), подавляют размножение вируса в клетках. ИФН-γ. или иммунный ИФН (ИФН тип II), синтезируется активированными Т-клетками, активированными макрофагами и усиливает экспрессию молекул I и II классов МНС и белков, принимающих участие в презентации антигена: LMP и TAP.

У беспозвоночных ИФН не обнаружен.

У рыб антивирусная активность регистрируется в супернатанте фибробластов, эпителиальных клеточных линий и лейкоцитов, инфицированных вирусом. Физико-химические свойства, известные для ИФН млекопитающих (устойчивость к низким pH, высокой температуре), представлены и в супернатанте рыб. Супернатант с предполагаемым присутствием ИФН подавляет цитопатический эффект вирусов в клетках. Пассивный перенос сыворотки от рыб, зараженных вирусом, защищает интактных животных от острого вирусного патогенеза. Аналогичная активность известна у черепах. У кур описано более десяти генов ИФН типа I. Гомология белков по аминокислотной последовательности, контролируемых этими генами, с ИФН типа I человека колеблется от 25 до 80%.

Наличие иммунного ИФН-γ у низших позвоночных пока не имеет четкого экспериментального подтверждения.

У кур клонирован ген ИФН-γ (тип I), который имеет 35% гомологии с аналогичным геном человека. Рекомбинантный ИНФ стимулирует продукцию окиси азота и экспрессию молекул II класса МНС макрофагами. Проведено клонирование генов для ИФН-γ у четырех видов птиц: цесарки, обыкновенного фазана, японского перепела и индюка (все представители сем. фазановых). Для проведения этой работы использован праймер, полученный из последовательности ИФН-γ гена кур. Выявлен удивительный консерватизм ИФН-γ гена у проанализированных птиц (93,5–96,7 и 87,8–97,6% на нуклеотидном и пептидном уровнях сравнения соответственно). Полученные данные подтверждают близкое филогенетическое родство проанализированных птиц, установленное давно по морфологическим показателям.

Трансформирующий фактор роста β (ТФР-β) образует большое видоспецифическое семейство, известное по способности супрессировать специфический иммунный ответ. ТФР-β, подобно ИЛ-1, подавляет активность макрофагов у радужной форели и рост Т-клеточной линии у Xenopus laevis. ТФР-β радужной форели имеет достаточно близкую гомологию с ТФР-β1 и -β5 млекопитающих (от 62 до 66% идентичности). У этих рыб он экспрессируется в лимфоидной ткани и в мозге, но не в печени. У X. laevis определены две формы ТФР-β, каждая из которых принимает участие в индукции мезодермы из эктодермы в период эмбрионального развития. Рекомбинантная форма ТФР-β X. laevis, как и подобная форма у млекопитающих, подавляет ИЛ-2-зависимый рост селезеночных бластов.

Классы, у представителей которых изучали и обнаружили те или иные цитокины или цитокинподобные факторы, представлены в табл. 9.2.

Таблица 9.2.

Основные цитокины и цитокинподобные молекулы или соответствующие гены, обнаруженные к настоящему времени у представителей различных классов животных

Таксоны	Цитокины или цитокинподобные факторы
Губки	ФНО-α
Иглокожие	
Морские звезды	ИЛ-1 ИЛ-2
Оболочники	
Асцидии	ИЛ-1
Моллюски	
Двустворчатые	ИЛ-1 ИЛ-2 ФНО-α
Брюхоногие	ИЛ-1 ИЛ-2 ФНО-α
Членистоногие	
Насекомые	ИЛ-1 ФНО-α
Позвоночные	
Костные рыбы	ИЛ-1 ИЛ-2 МИФ ИФН ТФР-β МАФ ФНО-α
Амфибии	ИЛ-1 ИЛ-2 МИФ ТФР-β
Рептилии	ИЛ-2
Птицы	ИЛ-1 ИЛ-2 ИФН
Млекопитающие	ИЛ-1 ИЛ-2 МИФ ИНФ ТФР-β МАФ ФНО-α

Примечание. Пропуски означают отсутствие информации.

* * *

Задача данного раздела, как об этом говорилось вначале, состояла в освещении вопросов эволюционного становления Т-системы иммунитета. При этом подразумевалось представить данные о формировании основных компонентов этой системы: тимуса, Т-лимфоцитов, их антигенраспознающих рецепторов и молекулярных регуляторов, продуцируемых клетками данной системы или для данной системы. В суммарном виде результаты сравнительных исследований в рамках рассматриваемой проблемы представлены в табл. 9.3.

Таблица 9.3.

Показатели Т-системы иммунитета в различных группах животных

Таксон	Тимус	Антиген Thy-1	Ответ на Т-клеточный митоген	Реакция в СКЛ	Ответ на гаптен-носитель	Т-хелперы	Цитокины	ТКР
Кольчатые черви	–	+	±	?	–	–	?	?
Иглокожие	–	+	±	±*	–	–	+	+; гены не обнаружены
Позвоночные								
Круглоротые								
миксины	–	?	±	±	–	–	+	?
миноги	±; зачаток	?	±	±	–	–	?	+; гены не обнаружены
Хрящевые рыбы	+	+	±	±	–	?	?	+
Костные рыбы	+	+	+	+	+	+	+	+
Амфибии	+	+	+	+	+	+	+	+
Рептилии	+	+	+	+	+	+	+	?

Примечание. + – наличие признака, – – отсутствие признака, ? – информация отсутствует, * – реакция проявляется только в ксеногенном сочетании клеток.

Все беспозвоночные лишены тимуса – места развития Т-клеток. Впервые зачаток тимуса в виде небольшого скопления лимфоидных клеток в районе жаберных щелей появляется у круглоротых. Возникновение и филогенез данного морфологического образования бесспорно явились важным арогенным событием, так как поставило всю систему специфической иммунной защиты на новый более высокий уровень. Адаптационное значение такого события легко понять, наблюдая путь, по которому шло эволюционное совершенствование органа от менее структурированной формы низших позвоночных животных к более высокой морфологической и гистологической организации у представителей высокоорганизованных таксонов, что выражается, в частности, в делении органа на доли, дольки фолликулы Кларка – элементарные гистологические структурные единицы, в наличии телец Гассаля и делении паренхимы на корковый и медуллярный слои.

Нельзя обойти молчанием тот факт, что уже у низших позвоночных, каковыми являются амфибии (данные экспериментов с X. laevis), тимус проявляет одно из фундаментальных своих свойств – способность к селекции клонов Т-клеток, распознающих собственные антигены гистосовместимости. Напомним, что явление внутритимусной аллоантигенспецифической селекции впервые было описано у мышей и оценивается как наиболее важное событие в дифференцировке тимоцитов. В результате селекционного процесса отбираются для дальнейшей жизнедеятельности только те клетки, ТКР которых способны распознавать собственные антигены гистосовместимости (антигены I класса у предшественников Т-килле-

ров – $CD8^+$ и антигены II класса у предшественников Т-хелперов – $CD4^+$) в комплексе с чужеродными пептидами.

Исследования, проведенные с X. laevis, показывают, что рассматриваемое явление уже проявляется на филогенетическом уровне амфибий. Возможно, оно возникло раньше – на уровне костных рыб.

Эволюционное развитие Т-системы связано с возникновением Т-лимфоцита. Знаменательно, что еще до появления специализированного органа, где собственно и происходит «оформление» недифференцированного предшественника в Т-лимфоцит, бестимусные животные (кольчатые черви, иглокожие, оболочники и др.) уже имеют целомоциты с некоторыми свойствами Т-клеток.

О преадаптации целомоцитов беспозвоночных к Т-клеточному пути развития говорит целый ряд фактов.

1. В очагах отторжения алло(ксено)трансплантатов у беспозвоночных представлены клетки, морфологически неотличимые от лимфоцитов позвоночных животных.

2. На целомоцитах представителей многих филумов беспозвоночных обнаружены структуры, родственные наиболее характерному маркеру Т-клеток млекопитающих – антигену Thy-1.

3. Лимфоциты беспозвоночных, так же как и Т-клетки позвоночных животных, способны отвечать на Т-клеточные митогены – ФГА, Кон А. Несмотря на то что этот ответ ниже, чем у высших позвоночных животных, важен сам факт такой возможности. Он говорит, во-первых, о наличии на поверхности лимфоцитов беспозвоночных структур, взаимодействующих с митогенами Т-клеток и, во-вторых, о способности провзаимодействовавших клеток беспозвоночных развивать ответную пролиферативную реакцию.

4. Очень существенна информация об экспрессии на поверхности лимфоцитов иглокожих и оболочников отдельных полипептидов или полноценных антигенраспознающих рецепторов (ТКР), гомологичных соответствующим молекулярным структурам Т-клеток млекопитающих. Эти факты прямо указывают на молекулярный механизм распознавания чужеродности у беспозвоночных, хотя до сих пор не обнаружены гены, контролирующие эти структуры.

5. Лимфоциты иглокожих вступают в реакцию СКЛ на ксеноантигены гистосовместимости, демонстрируя тем самым способность как к распознаванию трансплантационных антигенов, так и к формированию ответной реакции – явления, свойственного Т-клеткам позвоночных животных.

Все эти факты, собранные вместе, позволяют утверждать, что уже на достаточно ранних этапах эволюционного развития в мире животных, задолго до возникновения тимуса как центрального органа иммунитета, прошла преадаптация целомоцитов беспозвоночных к Т-клеточному пути развития.

Исходя из обших представлений, следует заметить, что любая форма клеточного взаимодействия у многоклеточных животных подразумевает продукцию гуморальных факторов, реализующих это взаимодействие. Такие факторы выступают в качестве сигналов с эффекторными, дифференцирующими и митогенными свойствами.

У млекопитающих в процессах взаимодействия иммунокомпетентных клеток принимают участие более 30 цитокинов, молекулярная природа и функциональная активность которых достаточно хорошо изучены. Эволюционная иммуноло-

гия не может представить подобную развернутую картину. Изучение молекулярных регуляторов в филогенетическом аспекте пока достаточно поверхностно и касается в основном трех медиаторов: ИЛ-1-, ИЛ-2-подобных факторов и ФНО-α. Мы не знаем, на каком филогенетическом уровне возникли эти цитокиноподобные структуры. Можно лишь констатировать, что медиатор, функционально напоминающий ИЛ-2 млекопитающих, обнаружен у иглокожих и всех позвоночных животных. ИЛ-1- и ФНО-α-подобные молекулы известны для морских звезд и моллюсков.

Несмотря на то что пока нет полной информации о состоянии Т-системы у основных групп животных (в табл. 9.3 отсутствие данных отмечено знаком «?»), можно попытаться определить некоторые этапы исторического становления данной системы.

Наиболее общим признаком для всех изученных филумов является наличие серологически, а в некоторых случаях и биохимически выявляемого антигена Т-клеток – Thy-1. К сожалению, ничего не известно о функции этого антигена. Высказывались предположения, что антиген Thy-1 может принимать участие в межклеточных контактах у многоклеточных животных.

Второй широко распространенный показатель Т-системы – это реакция Т-клеток на соответствующие митогены (ФГА, Кон А). В данном случае важным фактором выступает не наличие на поверхности клетки углеводного радикала, способного взаимодействовать с митогеном, а собственно реакция клетки на данные митогены, выражающаяся в пролиферативном ответе. У млекопитающих, как об этом уже говорилось, и Т- и В-клетки взаимодействуют с Т-клеточным митогеном, но только Т-клетки формируют ответную реакцию. Пролиферативный ответ лимфоцитов на соответствующие митогены от кольчатых червей до хрящевых рыб уступает ответу вышестоящих таксономических групп. Однако сам факт такой реакции указывает на наличии Т-подобных клеток у представителей изученных таксонов.

Реакция в СКЛ представляется одной из существенных при анализе признаков Т-системы у тех или иных филогенетических групп. Одно из главных свойств данной формы реакции – это ее реализация в условиях различий между взаимодействующими клетками по трансплантационным антигенам. Клетками-эффекторами данной формы реагирования, как это хорошо показано для млекопитающих, являются предшественники ЦТЛ и Т-хелперов.

Не случайно эта реакция является одной из определяющих при оценке уровня генетической, тканевой несовместимости между анализируемыми особями вида. Распознавание аллоантигенов клеток-стимуляторов осуществляется в основном антигенраспознающими рецепторами Т-клеток (ТКР) отвечающей популяции. Именно эти рецепторы выступают в качестве пускового механизма реакции на алло- и ксеноантигены. Кроме того, выраженность реакции может зависеть от потенциальной способности к силе пролиферативного ответа (наличия генов СКЛ). У мышей разных инбредных линий, имеющих один и тот же гаплотип MHC, но селекционированных в процессе получения линий из разных источников, уровень реакции на один и тот же аллоантиген может быть различным, что и указывает на фенотипическое проявление генов СКЛ.

Это отступление сделано исключительно для того, чтобы попытаться правильно (насколько это возможно) оценить результаты реакции в СКЛ у представите-

лей отмеченных в табл. 9.3 таксонов. Реакция в СКЛ у иглокожих, круглоротых и хрящевых рыб выражена слабо. Однако подобное обстоятельство вовсе не говорит об отсутствии способности к распознаванию чужеродных антигенов гистосовместимости у представителей отмеченных филумов. Действительно, морская звезда A. rubens имеет на поверхности целомоцитов одну из цепей гетеродимера ТКР, что само по себе указывает на потенциальную способность ее лимфоцитов взаимодействовать с аллоантигенным материалом, хотя уровень такого взаимодействия из-за низкой аффинности неполного ТКР может быть невысоким, что и проявляется в незначительной силе ответа в СКЛ. Слабая реакция в СКЛ может быть обусловлена и неспособностью отвечающих лимфоцитов к выраженной пролиферации. О подобной возможности говорят факты низкой пролиферативной активности лимфоцитов на Т-клеточные митогены у представителей тех же таксонов, которые ограничены в СКЛ.

Неспособность лимфоцитов круглоротых и хрящевых рыб распознавать носитель в комплексном антигене, возможно, относится к той же категории явлений.

Цитокины как молекулярные регуляторы межклеточных отношений обнаружены у всех исследованных таксономических групп.

Особый интригующий интерес состоит в разрешении вопроса о происхождении ТКР. Здесь исследователи сталкиваются с явными трудностями — необходимостью объяснить, за счет каких механизмов происходит специфическое отторжение с созданием иммунологической памяти от первичного контакта с чужеродностью у беспозвоночных и круглоротых и отсутствием (по данным с кДНК) генов ТКР у этих животных. Одно из объяснений состоит в том, что процесс дивергенции от общего предшественника зашел слишком далеко, чтобы обнаружить при имеюшихся методических возможностях какую-либо общность генов для ТКР между беспозвоночными и бесчелюстными, с одной стороны, и позвоночными — с другой.

С учетом фактов по трансплантационному иммунитету и данных, представленных здесь и суммированных в табл. 9.3, следует выделить, по крайней мере, два этапа в эволюционном становлении Т-системы иммунитета. Первый из них связан с появлением лимфоцитоподобной клетки, способной к реализации Т-клеточных функций. Все целомические животные обладают подобными клетками. В то же время все они с той или иной эффективностью отторгают чужеродный трансплантат. В очаге отторжения помимо клеток воспаления (макрофаги, эозинофилы, гранулярные лейкоциты, нейтрофилы и др.) присутствуют лимфоцитоподобные клетки в качестве эффекторов реакции, обладаюших иммунологической памятью. Иначе, эволюционно возникшая лимфоцитоподобная клетка уже обладала определенными свойствами Т-клеток.

Второй этап — это возникновение тимуса. Об эволюционном значении этого события уже говорилось. Возникновение данного органа, бесспорно, определило дальнейший успех в совершенствовании функциональной активности Т-клеток. Важнейшая роль тимуса состоит также в его способности осуществлять клоноспецифическую положительную и отрицательную селекции тимоцитов — отбор только тех клеток, которые могут взаимодействовать с собственными антигенами гистосовместимости в комплексе с чужеродным антигенным эпитопом и тем самым создавать условия для двойного распознавания.

Глава 10. ЭВОЛЮЦИЯ В-СИСТЕМЫ ИММУНИТЕТА

Эволюционное становление В-системы иммунитета требует рассмотрения, по крайней мере, трех основных проблем.

1. Становление лимфомиелоидных образований, обеспечивающих развитие В-лимфоцитов.

2. Филогенетический уровень, на котором появляются лимфоциты с В-клеточной функцией.

3. Возникновение и развитие основных эффекторных молекул В-системы – иммуноглобулинов.

10.1. Сравнительная феноменология антителопродукции

У млекопитающих гуморальный иммунный ответ к большинству антигенов (тимусзависимых антигенов) включает несколько этапов. Это – поглощение, процессинг и презентация антигена в иммуногенной форме на поверхности фагоцитирующих клеток, распознавание антигена В- и Т-лимфоцитами, антигензависимая дифференцировка В-клеток до синтезирующих антитела плазмоцитов, переключение синтеза иммуноглобулинов одного класса на другой, формирование клеток памяти. Не все из исследованных групп животных, принадлежащих к различным таксонам, способны к реализации этих основных антигензависимых процессов в равной мере (табл. 10.1).

Таблица 10.1.

Характерные признаки В-системы иммунитета в различных таксономических группах

Таксон	Интенсивность продукции антител	Формирование памяти	В-клетки	Плазмациты	Основной антителопродуцирующий орган	Число изотипов иммуноглобулинов	Выраженность спектротипов	Повышение аффинности антител
Иглокожие	–	–	±(?)	–	Аксиальный орган	–	–	–
Круглоротые								
Миноги	–	–	+	+	Жировое тело (взр.) Тифлозоль (личинки)	–	–	–
Хрящевые рыбы	±	–	+	+	Пронефрос	4	±	–
Костные рыбы	+	±*	+	+	Пронефрос	2	±	–
Амфибии								
Хвостатые	+	±*	+	+		1**	±	–
Бесхвостые	++	+	+	+	Югулярные тела	3	±	+

Таблица 10.1 (окончание).

Таксон	Интенсивность продукции антител	Формирование памяти	В-клетки	Плазмациты	Основной антителопродуцирующий орган	Число изотипов иммуноглобулинов	Выраженность спектротипов нность	Повышение аффинности антител
Рептилии	++	+	+	+	Селезенка	3	±	+
Птицы	+++	+	+	+	Сумка Фабрициуса	2 (3?)	±	+
Млекопитающие	++++	+	+	+	Селезенка	5	++	++

Примечание. * — регистрируется не у всех видов таксона; ** — аксолотль имеет два изотипа иммуноглобулинов: — — отсутствие признака; от ± до ++++ – разная степень выраженности признака.

Неоспоримых данных о способности круглоротых (миксин, миног) к продукции антител нет, хотя миноги обладают плазмоцитами – продуцентами иммуноглобулинов.

В сыворотке крови хрящевых рыб около 50% белков представлены иммуноглобулинами, среди которых имеются естественные антитела к ряду антигенов.

Среди рыб наиболее обширная информация о способности к антителогенезу получена при изучении гуморального иммунологического ответа у костистых рыб (табл. 10.2). Эффективность продукции антител у представителей данной таксономической группы ниже по сравнению с млекопитающими, а способность к формированию иммунологической памяти в ряде случаев выражена очень слабо. При иммунизации карпов (Cyprinus carpio) бактериями Aeromonas hydrophilia уровень антител при первичном ответе в $\log_2$ составил всего от 1 до 5. Повторная иммунизация обеспечивала незначительное, но статистически значимое повышение титров антител до уровня $\log_2$ 5–7. Представленные данные демонстрируют принципиальную возможность данного вида рыб отвечать на бактериальные антигены, хотя выраженность такого ответа незначительна. Близкие результаты при работе с теми же естественными патогенами рыб получены на кошачьем сомике (Ictalurus nebulosus).

О более слабом развитии гуморального иммунного ответа у рыб по сравнению с млекопиющими говорят также опыты, проведенные со стальноголовым лососем (Salmo gairdnery). Рыб иммунизировали эритроцитами барана в дозе, обычно используемой при работе с мышами. Пик антителопродуцирующих клеток (АОК) регистрировался на 16–18-й день, в то время как у мышей максимум АОК отмечается на 4–5-й день. Число антителопродуцентов у рыб было в 7–10 раз меньше, чем у мышей. При повторной иммунизации максимальный ответ наблюдался на 6-й день; количество АОК увеличивается, но незначительно.

Первичный и вторичный иммунные ответы были воспроизведены также в опытах in vitro при работе с клетками периферической крови, передней почки и селезенки кошачьего сомика (Ictalurus punctatus). Установлено, что иммунологи-

ческая память у данного вида рыб развивается как на тимусзависимые, так и тимуснезависимые антигены.

Таблица 10.2.

Антителопродукция у костистых рыб

Вид	Антиген	Первичный ответ	Память	Примечание
Красная нерка (Oncorhynchus nerca)	Cryptobia salmositia	+		Изучали гемолизины. Выявлены популяционные различия
Кижуч (Onc. kisutsch)	О-антиген Vibrio anquillarum	+		Пик антител – на 16-й день после иммунизации. Число АОК: пронефрос – 16 767, селезенка – 6 225, тимус – 90
Тихоокеанский лосось (Onc. mykiss)	Несколько антигенов	+	+	
Радужная форель (Salmo irideus)	Эритроциты кур, барана, человека	+		Изучали естественные и приобретенные гемолизины. Пик АОК предшествовал пику антител
Стальноголовый лосось (Salmo gairdneri)	Эритроциты барана	+	+	Пик первичного ответа – 16–18-й день. Пик вторичного ответа – 6-й день
	ДНФ-гемоцианин	+		Курс иммунизации – 150 дней в полном адъюванте Фрейнда. Титр в $\log_2$ на пике ответа – 8–10
	γ-Глобулин человека	+	+	Тимэктомия не влияла на формирование ответа
Карп (Cyprinus carpio)	Aeromonas salmonicida	+	+	Пик антител – 20-е сутки после первичной иммунизации. Титр в $\log_2$ на пике ответа – 1, 2, 3 при иммунизирующих дозах
	Aeromonas hydrophilia	+		
	Декстран-БСА	+		Ответ к декстрану
	Декстран-Leuconostes mesenteroides	+		
Кошачий сомик (Ictalurus punctatus)	ДНФ-ЛСА	+	+	Ответ к ДНФ in vivo и in vitro
	ДНФ-гемоцианин (тимусзависимые антигены)	+	+	Для тимусзависимого антигена требуются три типа клеток: Т-, В-клетки и макрофаги. Для тимуснезависимых антигенов – два типа: В-клетки и макрофаги

В отличие от млекопитающих память у рыб не связана с повышением аффинности антител в течение первичного и вторичного иммунного ответа и проявляется только или в основном за счет пула антигенспецифических клеток, образовавшихся после первичного контакта с антигеном. К подобному заключению пришли в результате изучения спектротипов иммуноглобулинов тихоокеанского лосося Onc. mykiss. Антитела от первично и повторно иммунизированных рыб дают идентичные или близкие спектротипы, которые к тому же не изменяются в процессе развития иммунного ответа.

Начальным событием в антителогенезе млекопитающих являются поглощение, внутриклеточное переваривание и презентация антигена в иммуногенной форме на поверхности фагоцитирующих мононуклеаров. Аналогичные процессы описаны и для рыб. Например, внесение в культуру клеток периферической крови канального сомика предварительно проинкубированных с гемоцианином моноцитов или В-клеток приводит к значительно большему накоплению антител в культуре по сравнению с культурой, куда вносили интактный антиген. Процесс трансформации антигена в иммуногенную форму требует жизнеспособных фагоцитирующих мононуклеаров. Обработка таких клеток параформальдегидом до контакта с антигеном отменяет индукцию. В то же время аналогичная обработка после поглощения и процессинга антигена существенно не влияет на формирование ответа.

Индукция антителогенеза посредством иммуногенной формы антигена, представленного на поверхности фагоцитирующего мононуклеара, подразумевает взаимодействие такого мононуклеара с клеткой-продуцентом антител. Данная форма взаимодействия давно и хорошо изучена у млекопитающих. В опытах с комплексной культурой in vitro, составленной из sIg^+- и sIg^--клеток и макрофагов канального сомика, показано, что для развития ответа на тимуснезависимый антиген достаточно двух типов клеток: макрофагов и sIg^+-лимфоцитов; ответ к тимусзависимому антигену требует участия третьего клеточного типа — sIg^-- лимфоцитов.

Необходимость помощи со стороны Т-хелперов продемонстрирована также в опытах по реализации феномена гаптен—носитель у рыб, о чем уже говорилось в гл. 9.

Представленные данные показывают, что гуморальный иммунный ответ костистых рыб имеет ряд общих черт с ответом млекопитающих: процессинг и презентация антигена в иммуногенной форме на поверхности фагоцитирующих мононуклеаров, кооперация различных типов иммунокомпетентных клеток в начальный период развития специфического ответа, формирование иммунологической памяти. В то же время выраженность иммунного ответа у рыб уступает тем количественным проявлениям ответа, который наблюдается у млекопитающих при равных условиях инициации антителогенеза. Эти количественные различия касаются как первичного, так и вторичного иммунного ответа. Кроме того, в отличие от млекопитающих у костистых рыб не происходит значительного изменения аффинности антител в процессе развития первичного и вторичного ответа, что само по себе может говорить о более слабом в количественном отношении представительстве антигенспецифических клонов В-клеток.

В классе амфибий сила гуморального иммунного ответа у представителей различных отрядов неодинаковая. Если хвостатые амфибии (Urodela) по выраженно-

сти ответа приближаются к костистым рыбам, то представители более высоко организованного отряда бесхвостых амфибий (Anura) способны подчас к той силе ответа, которая характерна для высших позвоночных животных. Например, при иммунизации аксолотлей (Ambystoma mexicanum) сильным иммуногеном – бактериофагом F_H – максимальный ответ регистрируется только через 8 недель. Несмотря на явную слабость первичной реактивности, происходит формирование иммунологической памяти. При повторном введении антигена экспоненциальный рост титров антител завершается к 4-й неделе. Сниженным по сравнению с млекопитающими антиэритроцитарным ответом характеризуется другой представитель хвостатых амфибий – ребристый тритон (Pleurodeles waltlii). В работе, выполненной с двумя видами тритонов — Pleurodeles waltlii и Triturus alpestris, была изучена динамика антителопродукции к двум корпускулярным антигенам: Salmonella typhi и эритроцитам барана. Ответ P. waltlii к H-антигену S. typhi достигает пика антител при умеренных титрах только к 6-й неделе. Повторная иммунизация не обеспечивает усиление ответа, что указывает на отсутствие иммунологической памяти к данному антигену. T. alpestris имеет естественные антитела к H-антигену S. typhi. Очевидно, именно с этим связан их более сильный ответ по сравнению с P. waltlii. Однако повторная иммунизация не приводит к увеличению титров индуцируемых антител. Ответ к O-антигену S. typhi у обоих видов тритона был низким. Ответ исследуемых животных к эритроцитам барана регистрировался только после многократной иммунизации. В отличие от ответа к антигенам S. typhi повторная иммунизация эритроцитами провоцирует создание иммунологической памяти. Ответ к растворимым тимусзависимым антигенам либо не формируется, либо его проявление крайне слабо.

Антителопродукция у бесхвостых амфибий как к корпускулярным, так и к растворимым антигенам инициируется относительно легко. В период раннего онтогенеза X. laevis первые клетки, продуцирующие антитела к гаптену, появляются на 8-й день после оплодотворения (стадия 48), достигая максимума к 21–26-му дню развития (стадия 52–54). В период метаморфоза способность к гуморальному иммунному реагированию падает. Через 10 месяцев индивидуальной жизни наблюдается вторая волна подъема реактивности, которая по антителопродукции достигает максимума к двум годам. У старых пятилетних животных способность к развитию ответа крайне низка.

Тимэктомия приводит к снижению продукции антител к тимусзависимым антигенам, но не отражается на силе ответа к тимуснезависимым антигенам. Необходимость T–B-кооперации для полноценного ответа продемонстрирована также в опытах с головастиками X. laevis 51–56 стадий развития, характеризующихся сниженной способностью к гуморальному иммунному ответу. Введение таким животным T-клеток, сенсибилизированных к носителю, резко повышало их ответ к гаптену.

Феномен гаптен–носитель, указывающий на необходимость помощи со стороны T-клеток для успешного формирования B-клеточного ответа, воспроизводится как у хвостатых, так и бесхвостых амфибий. Однако у хвостатых амфибий он проявляется только в случае использования корпускулярного носителя. Растворимый комплекс терпит неудачу при включении иммунного ответа. Как отмечается, в ряде случаев ареактивность не связана с отсутствием T-хелперов, но за-

висит от способности макрофагов перерабатывать и представлять антиген в иммуногенной форме. Так, сенсибилизация тритона Notophthelnus viridescens конъюгатом гемоцианина с бентонином, хорошо поддающимся фагоцитозу, и последующее введение комплекса ТНФ–гемоцианин–бентонин обеспечивают нормальный анти-ТНФ-ответ. Ответ к гаптену не развивается, если работу проводить только с комплексом ТНФ–бентонин. Введение коллоидного угля, подавляющего активность фагоцитирующих мононуклеаров, до сенсибилизации комплексом гемоцианин–бентонин препятствует развитию ответа к ТНФ.

Представители различных таксономических групп рептилий – ящерицы, змеи, черепахи, крокодилы – обладают достаточно хорошо развитой способностью формировать гуморальный иммунный ответ к самым разнообразным антигенам: белкам, бактериям, гетерологичным эритроцитам.

Наиболее доступным и удобным объектом для иммунологических исследований является ящерица-кровосос (Calotes versicolor). Ответ этих животных на стандартную дозу эритроцитов барана хорошо выражен, хотя пик ответа приходится не на 4–5-й день после иммунизации как у млекопитающих, а лишь на 14-й, а максимум антител в крови приходится на 21-й день. При повторном введении того же антигена наблюдаются признаки сформировавшейся иммунологической памяти, характеризующейся сокращением латентного периода и более быстрым достижением пика как гуморальных антител, так и АОК. Однако у повторно иммунизированных животных максимальное количество антител и антителопродуцентов остается на уровне первичного ответа. Иначе, иммунологическая память ящериц характеризуется кинетическими, но не количественными сдвигами.

Как и у других позвоночных животных, гуморальный иммунный ответ рептилий реализуется при участии Т-хелперов. Известно, что низкая доза антигена, введенная незадолго до основной иммунизации, инициирует генерацию специфических Т- хелперов. Использование низкодозовой сенсибилизации приводит к значительному усилению иммунного ответа к эритроцитам барана.

10.2. В-клетки и антителопродуцирующие органы

Возможно, что первые признаки В-клеток появились у иглокожих. Клетки аксиального органа морской звезды A. rubens, прилипающие к нейлоновой вате при фракционировании, способны отвечать на В-клеточные митогены (ЛПС, экстракт из Nocardia opaca). Культура этих клеток в условиях повторной стимуляции гаптеном ТНФ продуцирует антителоподобный фактор, специфичный к соответствующему гаптену. Насколько эти клетки отвечают требованиям В-лимфоцитов, пока не ясно.

10.2.1. Круглоротые

Лимфоидная ткань первичных позвоночных животных – круглоротых, выражена слабо. Миксины не имеют дискретных, морфологически хорошо обособленных и самостоятельных истинно лимфоидных образований. Мононуклеарные клетки лимфоидного типа встречаются в мышечной ткани глоточной, занднеб-



Рис.10.1. Жировое тело ручьевой миноги Lamperta planeri (увел. 10) (Ланге и др., 1990)
а – хорда; *б* – нервная трубка, *в* – жировое тело

ной области, в фолликулах кишечника, паренхиме пронефроса. С помощью моноклональных антител в периферической крови тихоокеанской миксины (Eptatretus stoutii) выявлено около 65% лимфоцитов с поверхностным иммуноглобулином (sIg^+) – явным характерологическим признаком В-клеток. Однако у этих животных отсутствует способность формировать плазмациты – завершающую клеточную форму в гистогенезе В-клеток. Остается неясным, как относиться к этим данным, так как до сих пор не найдены ни свободные иммуноглобулины, ни гены, контролирующие их.

Более высокоорганизованные представители класса круглоротых – миноги – демонстрируют некоторый успех в развитии лимфоидной ткани в целом и В-системы в частности. Основным органом лимфомиелопоэза взрослых миног является жировое тело – морфологически оформленное структурное образование, расположенное над хордой (рис. 10.1). У личинок функцию лимфомиелопоэза

выполняют тифлозоль (спиральный клапан) – прообраз селезенки, и почки, которые в процессе метаморфоза резорбируются, и их функция переходит к жировому телу (зачатку костного мозга протопозвоночной дуги). Однако удельный вес этой ткани в лимфопоэзе не известен и говорить о нем как о центральном органе иммунитета и В-системы пока нет оснований. Методами электронной микроскопии и иммуноцитохимии в тифлозоле личинок и жировом теле взрослых особей обнаружены плазматические клетки – потенциальные продуценты иммуноглобулинов.

10.2.2. Хрящевые рыбы

Способность хрящевых рыб к антителопродукции a priori подразумевает наличие у представителей этого класса В-клеток. Прямыми наблюдениями с использованием специфических антител и иммунофлюоресцентного метода были выделены лимфоциты, несущие sIg на своей поверхности. У акул обнаружены также плазматические клетки. Вероятными органами, в которых представлены В-клетки, являются селезенка, почки, лимфомиелоидный орган Лейдига, связанный с пищеводом, и эпигональный орган, расположенный вблизи гонад. Кроме этого, лимфоидные клетки встречаются в ткани спирального клапана кишечника.

10.2.3. Костные рыбы

Первые исследования по органному распределению В-клеток (sIg^+) дали парадоксальные результаты. Почти все 100% клеток тимуса, селезенки, пронефроса, периферической крови по результатам иммунофлюоресценции с антителами к иммуноглобулинам рыб дали положительные результаты. Подобные данные были получены с лимфоцитами золотой рыбки, карпа, лосося. В последующем в специальных исследованиях было выяснено, что в большинстве случаев поликлональные анти-Ig-антитела реагировали с углеводным компонентом.

Использование моноклональных антител к иммуноглобулинам рыб позволило провести ревизию полученных ранее данных. При работе с набором моноклональных антител к иммуноглобулинам канального сомика удалось показать, что во всех случаях количество sIg^+-лимфоцитов в периферической крови не превышало 20%. Эти данные отличаются от 100% положительных клеток, выявляемых с помощью поликлональных антисывороток. Близкие результаты получены при работе с моноклональными антителами к Н-цепи IgM белого осетра (Acipenser transmontanus). В периферической крови этого вида 12–28% лимфоцитов имеют sIg^+.

Сравнение различных лимфомиелоидных органов по их способности генерировать антителопродуценты выявило доминирующее участие в этом процессе пронефроса. Так, у кижучей (Onc. kitsutch), иммунизированных О-антигеном Vibrio anquillarum, число антителообразующих клеток (АОК) в пронефросе составило более 16 000 на орган, в селезенке – около 6000 и в тимусе – только 90. Гистологическое наблюдение выявило бóльшую гетерогенность В-клеток в пронефросе, чем в селезенке. В ответ на введение бактериального антигена Tetrahymena pyriformis молодым карпам (С. carpio) отмечается более интенсивная пролиферация лимфоцитов пронефроса по сравнению с ответом спленоцитов. О доминиру-

ющей роли пронефроса как компартмента В-клеток говорят также факты более выраженной бластогенной реакции лимфоцитов этого органа на В-клеточные митогены в отличие от лимфоцитов селезенки. Моноклональные антитела к Н-цепям IgM тихоокеанского лосося (Onc. mykiss) выявляют приблизительно 45% sIg^{+}-лимфоцитов в периферической крови и полное их отсутствие в тимусе. Кроме того, sIg^{+}-лимфоциты обнаружены в lamina proprïa карпа.

В процессе онтогенеза стальноголового лосося (S. gairdnery) первые лимфоидные IgM-положительные клетки появляются на 4—5-й день после выклевывания в ткани почки и лишь через месяц после выхода из икринок – в селезенке и тимусе.

У костных рыб, не имеющих функционально активного костного мозга, сумки Фабрициуса и лимфатических узлов, именно пронефрос выполняет роль источника стволовых элементов для лимфоидных и миелоидных клеток и первичного органа для В-клеточного пути развития.

10.2.4. Амфибии

Как уже отмечалось, амфибии представляют собой класс, который делает определенный прорыв в совершенствовании специфического иммунитета. Связано это с переходом от водного образа жизни к наземному и с необходимостью иметь дополнительные возможности защиты от новой группы инфекционных агентов воздушной и почвенной среды. Прогресс в развитии иммунной системы касается в первую очередь бесхвостых амфибий, которые в эволюционном развитии становятся обладателями функционирующего костного мозга и лимфатических узлов.

Изучение антителообразующей активности у лягушки-быка (Rana catesbeiana) демонстрирует бóльшую способность к формированию АОК в костном мозге, чем в селезенке. Удаление селезенки у X. laevis не оказывает влияния на процесс накопления антител в крови. Процентное распределение В-клеток в различных лимфомиелоидных органах взрослой леопардовой лягушки (Rana pipiens) выглядит следующим образом: югулярные тела – 50%, костный мозг – 14, кровь – 14, селезенка – 10 и тимус – 1%.

У эмбрионов бесхвостых амфибий источником стволовых лимфомиелоидных элементов является кровяной вентральный островок и дорсолатеральный участок мезодермы, откуда происходит заселение тимусного зачатка в ранний период развития иммунной системы и формирование собственно Т-клеток. Какая ткань является местом формирования В-клеток, остается неизвестным. Высказываются некоторые гипотетические суждения. Первое из них – тимус является местом формирования не только Т-, но и В-клеток. Второе строится на том наблюдении, что тимэктомия не изменяет лимфоидную ткань, ассоциированную с кишечником. Этот факт предполагает считать лимфоидную ткань кишечника за аналог сумки Фабрициуса у птиц. В то же время при изучении динамики накопления антителопродуцентов в костном мозге у Rana pipiens приходят к заключению о том, что данная ткань является основным источником В-клеток.

Роль этой ткани у млекопитающих как основного места развития В-клеток от стволового кроветворного предшественника хорошо известна. Доминирующее значение сумки Фабрициуса – компартмента дифференцирующихся В-клеток у птиц – пересматривается. Бурсэктомия у плода не препятствует созреванию В-клеток, способных после антигенной стимуляции формировать IgM-положи-

тельные клетки. Гистологически сумка Фабрициуса напоминает лимфоидную ткань, ассоциированную с кишечником, и, вероятно, ее следует рассматривать как вторичный лимфоидный орган, способный усваивать и процессировать антиген, а также участвовать в продукции антител в качестве одной из наиболее активной морфологической структуры. Более того, некоторые исследователи начинают рассматривать костный мозг птиц в качестве основного места созревания В-клеток.

Эволюционное возникновение костного мозга у бесхвостых амфибий позволяет провести прямую связь между этими животными, с одной стороны, и птицами и млекопитающими — с другой. Именно переход к наземному образу жизни, потребовавшему развития конечностей, определил костномозговую ткань как существенное или доминирующее место в преимущественном развитии В-клеточного ростка дифференцировки.

10.2.5. Рептилии

Лимфоидные органы и ткани у рептилий достаточно развиты. Помимо специализированных, морфологически хорошо обособленных тимуса, селезенки, костного мозга, печени, лимфоидные скопления встречаются в слизистой кишечника, в клоаке, в осевом регионе.

Наиболее активным органов в антителогенезе, как и у млекопитающих, является селезенка. Антигенная стимуляция приводит к активному бластогенезу и накоплению плазматических клеток во внешнем слое лимфатических капсул органа с последующим распространением антителопродуцентов в прилежащие слои красной пульпы. С помощью моноклональных антител к иммуноглобулинам ящерицы-кровососа (C. versicolor) в селезенке выявлено в среднем 53% sIg^+-лимфоцитов, в периферической крови — 23%, в костном мозге — 21% и в тимусе — 1%. У зародышей большое количество лимфоцитов с поверхностным IgM выявлено в печени, которая, очевидно, является главным органом, где происходит дифференцировка В-клеток в раннем онтогенезе.

Доминирующая роль селезенки как основного продуцирующего антитела органа установлена также у черепахи Argionemys horsfieldii. Количество sIg^+-лимфоцитов в этом органе составляет 25—52%, в то время как в крови — 13—23%. У каймановой черепахи (Chelydra serpentina) sIg^+-клетки составляют 50% в селезенке и только 7% в тимусе. У змеи Elaphe quadrivirgata в селезенке содержится около 35% sIg+-лимфоцитов и около 12% — в тимусе.

Предполагается, что источником В-клеток у рептилий являются печень и костный мозг, хотя прямых экспериментальных подтверждений нет.

10.2.6. Птицы

Сумка Фабрициуса, селезенка, железы слепой кишки и железы Гардериана — органы, где у птиц реализуется антителопродукция. Среди них сумка Фабрициуса занимает доминирующее место. У двухнедельных эмбрионов число лимфоцитов с sIg^+ в сумке Фабрициуса составляет около 75%. Вскоре после вылупления появляются В-клетки с иммуноглобулинами, имеющими промежуточную молекулярную массу. Доминирующее присутствие В-клеток в сумке Фабрициуса обусловле-

но, очевидно, специфическим медиатором – бурсином. Этот медиатор способен восстанавливать антителопродукцию у бурсэктомированных птиц.

В то же время представления о том, что рассматриваемый орган есть первичное морфологическое образование В-клеточного развития, пересматривается. Бурсэктомия после введения антигена приводит даже к увеличению АОК к эритроцитам барана за счет активации селезенки. Хирургическая бурсэктомия только что вылупившихся птенцов голубя не оказывает влияния на силу иммунного ответа к эритроцитам барана.

10.3. Изотипы иммуноглобулинов

До недавнего времени считалось, что привилегия образовывать антитела и тем самым обеспечивать специфический гуморальный иммунный ответ принадлежит всем позвоночным животным, включая бесчелюстных (круглоротых), она отсутствует у беспозвоночных. Однако у круглоротых до сих пор не удалось обнаружить гены, контролирующие структуры, подобные Ig более высокоорганизованных позвоночных животных (хрящевых рыб, костных рыб, амфибий и т.д.). В этой ситуации вопрос о наличии Ig-подобных молекул у бесчелюстных повис в воздухе. Одна из возможных трудностей в поиске соответствующих генов связана с ранней и глубокой дивергенцией иммуноглобулинового гена, имевшегося у общего предка бесчелюстных и челюстноротых животных более 450 млн лет т. н.

Иммуноглобулиновые гены и их продукты найдены у всех челюстноротых от хрящевых рыб до млекопитающих.

10.3.1. Хрящевые рыбы

Иммуноглобулины хрящевых рыб (Chondrichthyes) характеризуются определенным набором специфичностей. Они способны распознавать бактериальные, вирусные, эритроцитарные, белковые, углеводные детерминанты.

У акул обнаружены иммуноглобулины двух типов – с высокой (900 кДа) и низкой (180 кДа) молекулярной массой. Иммуноглобулины с высокой молекулярной массой состоят из пяти идентичных, соединенных дисульфидными связями мономеров. Отдельно взятая субъединица включает две Н-цепи (70 кДа) и две L-цепи (23 кДа). У некоторых видов акул (в частности, у леопардовой акулы) пентамерная форма иммуноглобулина содержит соединительную J-цепь, аналогичную той, которая известна для IgM млекопитающих. Иммуноглобулины с молекулярной массой 180 кДа, так же как мономеры высокомолекулярного иммуноглобулина, имеют две Н- и две L-цепи с той же молекулярной массой, что и соответствующие цепи пентамерной формы. Сходство между Н-цепями двух описанных форм в аминокислотной последовательности, серологической специфичности, содержании углеводов позволяет говорить об идентичности высоко- и низкомолекулярных иммуноглобулинов, представляющих собой лишь разные формы существования в организме.

Изучение полной аминокислотной последовательности Н-цепи иммуноглобулина акулы-няньки, включающей 557 остатков, показало гомологию этого иммуноглобулина с IgM млекопитающих. Аналогичный результат получен при сравне-

нии нуклеотидной последовательности иммуноглобулиновых генов рогатой акулы и млекопитающих.

У акулы-няньки помимо пентамера и мономера с молекулярной массой Н-цепи 72 кДа обнаружен иммуноглобулин с молекулярной массой Н-цепи, равной 50 кДа. Иммуноглобулин с укороченной Н-цепью образует только мономерную молекулу. Каково отношение этого иммуноглобулина к пента- и моноформам, не ясно. Предполагается, что уменьшение длины Н-цепи связано с делецией одного из С-доменов.

У скатов обнаружены две молекулярные формы иммуноглобулинов – пентамер (900 кДа) и димер (360 кДа). Скат-хвостокол (Dasyatis centrocera) обладает преимущественно димерной формой. В то же время у другого вида того же рода D. americane наибольшее количество иммуноглобулинов представлено в виде пентамера.

Общее мнение о характере IgM в классе хрящевых рыб сводится к тому, что представители данного таксона имеют гомолог IgM млекопитающих, который, как и у этих животных, представляет пентамер, составленный из идентичных мономеров. Низкомолекулярные иммуноглобулины – мономеры и димеры – являются субъединицами пентамерной формы.

Помимо «классического» IgM хрящевые рыбы обладают еще двумя иммуноглобулинами, которые были открыты относительно недавно. Один из них, получивший название «новый антигенный рецептор» (NAR), первоначально обнаруженный в сыворотке, продуцируется клетками селезенки, имеет необычное строение и для других классов позвоночных животных пока не известен. NAR – димер, состоящий из двух Н-цепей, L-цепи отсутствуют. Каждая Н-цепь включает один V-домен и пять С-доменов, не обладающих близкой гомологией с С-доменами других иммуноглобулинов. С помощью кДНК обнаружено, что Н-цепь имеет трансмембранный домен. Это обстоятельство указывает на две формы его существования: секреторную и мембраносвязанную, что подтверждается иммуногистохимически при использовании меченых моноклональных антител.

С помощью кДНК выявлен еще один изотип иммуноглобулина, обозначаемый как NARC, или IgW. Его строение соответствует обычной для иммуноглобулинов форме и включает две Н-цепи и две L-цепи. Н-цепь состоит из одного V- и шести С-доменов. Хвостовой домен является типичным для секреторных форм иммуноглобулиновых белков. Отличительная черта NARC это – «химерная» организация его Н-цепи. Она включает два N-концевых домена, гомологичных доменам IgX ската, и четыре домена, гомологичных NAR.

В классе хрящевых рыб у ската Raja kenojei обнаружен еще один изотип иммуноглобулинов IgX, или IgR, не имеющий гомологии с IgM. Н-цепь включает два С-домена, которые имеют определенную степень родства с NARC. В раннем онтогенезе часть клеток может продуцировать одновременно два изотипа: IgM и IgX. Позднее клетки осуществляют только моносинтез.

Таким образом, ранние данные о том, что хрящевые рыбы обладают только одним классом иммуноглобулинов, не соответствуют действительности. Благодаря использованию методов работы с кДНК, установлено наличие у данного класса животных четырех изотипов Н-цепи иммуноглобулинов: IgM, NAR, NARC (IgW) и IgX (IgR). Их возможные филогенетические связи представлены на рис. 10.2.

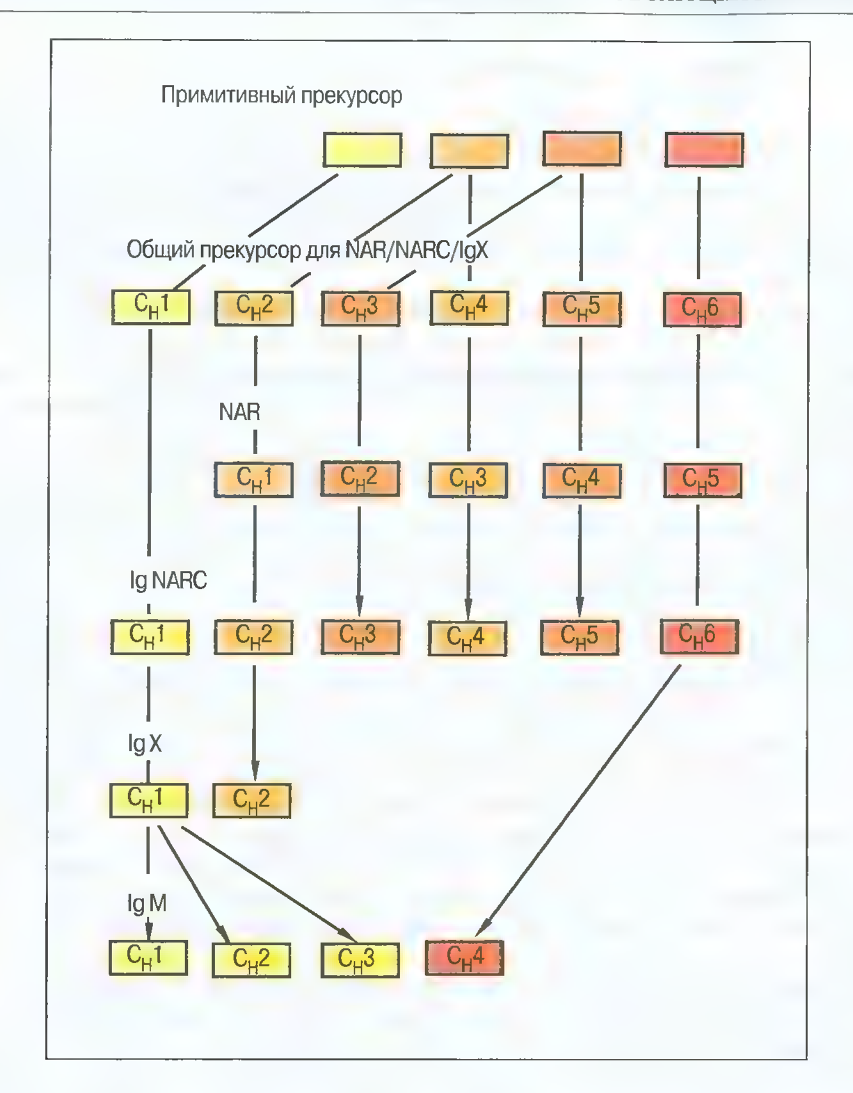


Рис. 10.2. Возможный филогенез С-доменов иммуноглобулинов от примитивного предшественника до IgM хрящевых рыб (по: Greenberg et al., 1996)

Каждый квадрат означает отдельно взятый домен. Символы в квадрате — порядковые номера доменов в Н-цепи молекулы. Интенсивность окрашивания — принадлежность к одному и тому же гомологичному домену

10.3.2. Костные рыбы

Внутри класса костных рыб выделяют три основные группы, отличающиеся друг от друга по строению скелета и наружного покрова. В класс включены костно-хрящевые рыбы, костные ганоиды и обширный, процветающий таксон наиболее высокоорганизованных рыб — настоящие костистые рыбы.

У представителя костно-хрящевых рыб — веслоноса (Polyodon spathula), обнаружен высокомолекулярный иммуноглобулин (600 кДа), построенный из четырех субъединиц с молекулярной массой каждой около 185 кДа. В состав субъединицы, как и у хрящевых рыб, входят две Н- и две L-цепи, объединенных в единую структуру дисульфидными связями. Кроме высокомолекулярного иммуноглобулина обнаружен и низкомолекулярный белок, соответствующий одной субъединице тетрамерного иммуноглобулина.

Сибирский осетр (Acipenser bueri) обладает тремя молекулярными формами иммуноглобулинов: $(H_2L_2)_n$, H_2L_2 и L_2. Н-цепи двух гетерогенных молекул $(H_2L_2)_n$ и H_2L_2 серологически неотличимы друг от друга, что позволяет говорить о наличии у данного вида только одного изотипа.

Имеется также информация о характере иммуноглобулинов у костных ганоидов. У одного из представителей данного таксона — ильной рыбы (Amia calva), как и у веслоноса, обнаружен высокомолекулярный иммуноглобулин (660 кДа), представляющий собой тетрамерную структуру. Кроме того, у этого вида выявлен и низкомолекулярный иммуноглобулин. Молекулярная масса Н-цепи высокомолекулярного иммуноглобулина составляет 70 кДа, низкомолекулярного — только 52 кДа. Однако вряд ли отличающиеся по молекулярной массе цепи относятся к разным классам иммуноглобулинов, поскольку и по антигенному составу, и по составу углеводов они идентичны. Возможно, в Н-цепи низкомолекулярного иммуноглобулина отсутствует один из С-доменов со стандартной молекулярной массой 12 кДа.

У двух видов панцирных рыб — Lepisosteus osseus и Lep. platyrhincus, относящихся к костным ганоидам, имеется только тетрамерная форма IgM-подобного белка. Использование аффинной хроматографии с иммобилизованной антисывороткой к L-цепям не позволило выявить хотя бы следы низкомолекулярного иммуноглобулина.

Вопрос о том, за счет каких механизмов наблюдается одновременное присутствие в сыворотке иммуноглобулинов двух молекулярных форм, принадлежащих одному и тому же классу, остается открытым.

Общей характеристикой всех костистых рыб, как, впрочем, и ганоидных, является наличие тетрамерной формы IgM. В то же время в зависимости от вида рыб наблюдается определенный спектр молекулярных вариантов иммуноглобулинов одного и того же класса. У морской костистой рыбы ронки (Haemulon album) высокомолекулярный иммуноглобулин представляет собой тетрамер, каждая субъединица которого построена по классическому типу: две Н-цепи (70 кДа) и две L-цепи (22,5 кДа). Мономерный, низкомолекулярный иммуноглобулин представляет собой субъединицу тяжелой формы.

Иная картина распределения иммуноглобулинов по молекулярной массе описана для другого вида — групера (Epinephelus idaira). Эта рыба имеет две молекулярные формы — тетрамер и мономер, общий план строения которых не отличается от иммуноглобулинов рассмотренных выше видов рыб. Однако, как и у ильной рыбы, Н-цепь низкомолекулярного иммуноглобулина имеет меньшую молекулярную массу по сравнению с высокомолекулярным иммуноглобулином (40 кДа против 70 кДа). Сходство Н-цепей двух форм в аминокислотной последовательности, характере пептидных карт, содержании углеводов позволяет утверждать, что они относятся к одному и тому же классу. Снижение молекулярной

массы Н-цепи низкомолекулярного иммуноглобулина связано, очевидно, с отсутствием в структуре данного полипептида двух С-доменов.

Третий тип распределения иммуноглобулинов по молекулярной массе описан у карася (Carassius auratus) и карпа (Cyprinus carpio). У этих видов представлена только одна молекулярная форма – тетрамер.

И, наконец, четвертый тип описан для канального сомика (Ictalurus punctatus) и коричневого сомика (Ictalurus nebulosus). У этих видов представлены как тетра-, так и мономер. Однако Н-цепь двух молекулярных форм имеет укороченный вид. Молекулярная масса Н-цепи канального и коричневого сомиков равняется 58 и 50 кДа соответственно. Таким образом, несмотря на наличие у костных рыб по крайней мере двух форм иммуноглобулинов и двух вариантов Н-цепи, специальный анализ указывает на их принадлежность к одному классу IgM.

Гомологичность иммуноглобулинов настоящих костистых рыб IgM млекопитающих подтверждена при реконструкции аминокислотной последовательности по кДНК Н-цепей атлантической трески (Gadus morhua). Гомология с Н-цепью мыши, шпорцевой лягушки, канального сомика составляет 24, 27 и 30% соответственно. Наибольшая гомология зарегистрирована для С4-домена.

Признаки дальнейшей дивергенции иммуноглобулинов наблюдаются у лопастоперых рыб. При работе с австралийской двоякодышащей рыбой Neoveratodes forsteri и ее африканской разновидностью Protopterm aethiopicus обнаружены высокомолекулярный иммуноглобулин, гомологичный IgM млекопитающих, и низкомолекулярный иммуноглобулин (120 кДа), состоящий из двух Н- и двух L-цепей. Н-цепи этих иммуноглобулинов отличаются друг от друга по аминокислотному составу, антигенным свойствам и содержанию углеводов. В отличие от других иммуноглобулинов низкомолекулярный белок имеет лишь следы сиаловой кислоты. У африканской двоякодышащей рыбы обнаружен еще один иммуноглобулин с молекулярной массой 170 кДа, включающей две Н-цепи (65 кДа) и две L-цепи (22,5 кДа), который относится к самостоятельному классу.

Кроме отмеченных изотипов иммуноглобулинов у настоящих костистых рыб (кошачий сомик Ictalurus punctatus) описан еще один изотип, гомологичный IgD млекопитающих, выявленный с помощью кДНК. Н-цепь этого белка включает один V-домен, способный к реаранжировке, – C_H1-домен, гомологичный μ-цепи, и семь С-доменов, гомологичных δ-цепи. Подобно IgD млекопитающих, Н-цепь гомолога имеет домены для секреторной и мембраной форм и экспрессируется одновременно с IgM в некоторых, но не во всех В-клетках.

10.3.3. Амфибии

Хвостатые амфибии – американский протей (Necturus maculosus) и два вида тритона (Pleurodeles waltii и Triturus alpestris) – обладают только одним классом высокомолекулярного иммуноглобулина. В то же время мексиканский аксолотль (Ambystoma mexicanum) имеет высокомолекулярный и низкомолекулярный иммуноглобулины, относящиеся к разным классам. С помощью моноклональных антител установлено, что Н-цепь высокомолекулярного иммуноглобулина имеет молекулярную массу, равную 76 кДа, низкомолекулярного иммуноглобулина – 66–68 кДа. Молекулярная масса L-цепи двух изотипов равняется 27–30 кДа.

У большинства бесхвостых амфибий также обнаружены два класса иммуноглобулинов. Высокомолекулярный иммуноглобулин имеет молекулярную массу около 900 кДа и представляет собой пентамер с типичной организацией субъединиц, построенных из двух H- и двух L-цепей. Исключение составляет шпорцевая лягушка X. laevis, которая имеет гексамерную форму иммуноглобулина.

Первые данные по второму изотипу иммуноглобулинов с промежуточной молекулярной массой получены при работе с лягушкой-быком (Rana catesbiana). В самых ранних исследованиях было высказано предположение, что иммуноглобулин этого второго изотипа гомологичен IgG млекопитащих. При более подробном изучении структурных особенностей данного вида иммуноглобулинов у лягушки-быка, шпорцевой лягушки и жабы-аги было установлено, что они больше напоминают иммуноглобулины, обнаруженные у двоякодышащих рыб и птиц. У лягушки-быка оказалось два подкласса данного иммуноглобулина. Они различаются между собой по антигенным свойствам и способностью к агрегации при гельфильтрации.

У шпорцевой лягушки описано всего три изотипа иммуноглобулинов. Их условные обозначения: IgM, IgY и IgX. Молекулярная масса H-цепей этих иммуноглобулинов составляет последовательно 73, 69 и 80 кДа. Иммуноглобулины IgM и IgX представлены в гексамерной форме, IgY известен только в виде мономера.

Полная аминокислотная последовательность, воспроизведенная по клонированной кДНК, указывает на прямую гомологию с IgM млекопитающих. Иммуноглобулин X. laevis содержит четыре С-домена. C_H3 и C_H4 наиболее консервативны. Их степень гомологии с соответствующими доменами IgM мыши составляет 47 и 42%. При этом гомология C_H1 и C_H2 с теми же доменами млекопитающих относительно невелика – 31 и 32%. Четыре цистеиновых остатка, которые образуют межцепьевые, дисульфидные мостики у IgM мышей и человека (позиции 140, 337, 414 и 575), законсервированы в эволюции и представлены также у X. laevis в тех же положениях. COOH-концевой цистеин (позиция 575) может быть участком связывания J-цепи, подобно млекопитающим. В H-цепи IgM X. laevis имеются восемь акцепторных участков для связывания олигосахаридов, пять из которых указывают на ту же локализацию в H-цепи мыши.

Таким образом, сравнительный структурный анализ H-цепи шпорцевой лягушки и млекопитающих демонстрирует высокий уровень родства и прямой филогенетической связи между IgM изученных классов животных.

IgY является самостоятельным изотипом иммуноглобулинов у X. laevis. Молекулярная масса H-цепи этого иммуноглобулина превышает молекулярную массу соответствующей цепи IgG млекопитающих и включает, вероятно, четыре С-домена. Интересно, что в состав одной и той же молекулы IgY входят как гликозилированные, так и негликозилированные H-цепи. Возможно, что подобный дуализм связан с тем, что в процессе биосинтеза по каким-то причинам (?) только одна цепь может связывать углеводы. Из трех известных для X. laevis L-цепей с IgY ассоциирована цепь, имеющая наиболее высокую молекулярную массу (29 кДа).

С помощью моноклональных антител к L-цепям у X. laevis удалось выделить третий класс иммуноглобулинов – IgX. Молекулярная масса H-цепи этого иммуноглобулина составляет 80 кДа. Как и IgM, данный иммуноглобулин представлен в гексамерной форме.

Из трех изотипов иммуноглобулинов Xenopus два – IgM и IgX – являются тимуснезависимыми в отличие от IgY. Их продукция связана в основном с лимфоидной тканью кишечника. IgX имеет достаточно высокую гомологию с IgA млекопитающих и, возможно, был его филогенетическим предшественником.

10.3.4. Рептилии

Среди рептилий лучше других изучены черепахи. У представителей этого отряда обнаружено три типа иммуноглобулинов: высокомолекулярный, низкомолекулярный и иммуноглобулин с промежуточной молекулярной массой.

Иммуноглобулин с высокой молекулярной массой представляет собой пентамер, подобно IgM млекопитающих. Иммуноглобулин с промежуточной молекулярной массой (178 кДа) состоит из двух Н-цепей (64 кДа) и двух L-цепей (22 кДа). Данный иммуноглобулин напоминает соответствующий белок двоякодышащих рыб и птиц. Иммуноглобулин с низкой молекулярной массой (120 кДа) построен из двух Н-цепей (38 кДа) и двух L-цепей (23 кДа), соединенных межцепьевыми дисульфидными мостиками. Крайне низкое содержание углеводов у данного иммуноглобулина наводит на мысль об отсутствии в структуре Н-цепи C_H2-домена, соответствующего углеводсодержащему домену Н-цепи IgG человека.

10.3.5. Птицы

У кур и уток, как и у предыдущих таксонов, в сыворотке крови представлен высокомолекулярный иммуноглобулин (900 кДа), имеющий пентамерную форму организации. Данный иммуноглобулин серологически родствен IgM млекопитающих. Кроме того, у птиц обнаружен иммуноглобулин с промежуточной молекулярной массой – 175 кДа. Молекулярная масса Н-цепи равна 65 кДа и L-цепи – 22,5 кДа. В различных секретах кур и плазмацитах слизистой кишечника обнаружен еще один иммуноглобулин, который, возможно, является гомологом секреторного IgA2 млекопитающих, о чем говорит, в частности, сходство в последовательности и составе аминокислот. В суммарном виде изотипы (классы) иммуноглобулинов представлены в табл. 10.3

Таблица 10.3.

Изотипы иммуноглобулинов у представителей различных классов позвоночных животных

Класс	Изотип
Хрящевые рыбы	IgM, NAR, NARC (IgW), IgX* (IgR)
Костистые рыбы	IgM, IgD (вероятный гомолог IgD млекопитающих)
Амфибии	IgM, IgY, IgX* (вероятный гомолог IgA млекопитаюших)
Птицы	IgM, IgY (вероятный гомолог IgA2 млекопитающих)
Млекопитающие	IgM, IgD, IgG, IgE, IgA

*IgX хрящевых рыб и амфибий – самостоятельные белки, имеюшие одно и то же обозначение.

10.4. Легкие цепи

У млекопитающих известны два типа легких (L) цепей – каппа (κ) и лямбда (λ), с молекулярной массой 23 кДа. Каждая цепь построена из двух доменов – вариабельного (V_L) и константного (C_L). Соотношение типов L-цепей колеблется в зависимости от вида животных. Так, у человека отношение κ:λ в процентном отношении равно 70:30. В то же время у мышей оно составляет 95:5. У коров, напротив, доминирует λ-цепь. Гомология С-доменов L-цепей среди различных видов млекопитающих достаточно высока: около 37% для κ- и около 50% для λ-цепей.

Между L-цепями акул, костистых рыб и млекопитающих выявлено антигенное родство, что само по себе указывает на эволюционную связь между этими полипептидами.

Сравнительное изучение частичной N-концевой последовательности аминокислотных остатков L-цепей акул и млекопитающих выявило неожиданную особенность. Оказалось, что степень гомологии между вариабельными доменами выше, чем между константными. Гомология между VL-доменами тигровой акулы (Galecerdo cuvieri) и галапагосской акулы (Carcharhinus plumbeus) очень высока и составляет 75% идентичных положений. Степень гомологии VL этих акул с VL человека и собаки – около 55%. В то же время число совпадающих положений CL акул с C_L человека, мыши и кролика – только 20%. Эти факты указывают на то, что VL более консервативен в эволюции позвоночных, чем CL. Эволюционное сдерживание мутационных изменений в VL-гене связано, очевидно, с необходимостью консервации положений в аминокислотной последовательности, ответственных за такое конформационное строение, при котором свободно формируется варьирующий антигенсвязующий участок. В то же время гены, обеспечивающие синтез доменов с иными, не относящимися к связыванию антигена функциями, оказались более «свободными» от давления отбора. Иначе, VL- и CL-гены, несмотря на сцепленность в едином информационном участке на хромосоме, подвергались разному давлению отбора в связи с разным функциональным предназначением.

При использовании моноклональных антител к L-цепям иммуноглобулинов канального сомика (Ic. punctatus) выделены два типа этих цепей с молекулярной массой 22–24 и 26 кДа. В сыворотке встречаются три вида иммуноглобулинов: два вида, имеющих один из типов L-цепей, и один вид, обладающий двумя типами одновременно. При этом изотип H-цепи у данного вида рыб представлен одной-единственной молекулярной формой.

У шпорцевой лягушки X. laevis с помощью моноклональных антител выявлены три типа L-цепей с молекулярной массой 25 (L_1; гомолог $L_κ$ млекопитающих), 27 (L_2) и 29 кДа (L_3; гомолог $L_λ$ млекопитающих). При реконструировании аминокислотной последовательности этих цепей по нуклеотидной последовательности кДНК и сопоставлении полученных данных с последовательностью L-цепей акул, кур и млекопитающих, выявлена статистически значимая гомология между С-доменами сравниваемых полипептидов, которая равна приблизительно 33%.

У лягушки-быка (Rana catesbeiana) имеется только один тип L-цепи, образующей нековалентную связь с H-цепью. В отличие от млекопитающих L-цепь данного вида содержит не 5, а 6 полуцистеиновых остатков, образующих три внутри-

цепьевых дисульфидных мостика. Изучение полной аминокислотной последовательности константной области выявило бóльшую гомологию с соответствующей областью к-типа, чем с λ-типом L-цепей млекопитающих.

Возникновение легких цепей иммуноглобулинов следует, очевидно, связать с первичночерепным предком, общим для щитковых (Ostracodermi) и панцирных (Placodermi) рыб, существовавших предположительно в верхнем кембрии. Их филогенетическая связь подтверждается наличием общих антигенных детерминант, близостью молекулярной массы, аминокислотным составом и статистически значимой гомологией по последовательности аминокислотных остатков.

Первые признаки дивергенции L-цепей зарегистрированы на уровне хрящевых рыб. Это расхождение по типам произошло раньше образования изотипов H-цепей. Сравнение аминокислотной последовательности как V-, так и С-областей L-цепей между филогенетически удаленными таксонами (хрящевые рыбы–костистые рыбы–амфибии–млекопитающие) указывает на большее родство L-цепей представителей более низших таксонов с к-типом, чем с λ-типом млекопитающих. Данные факты позволяют предполагать первичное возникновение χ-типа и позднейшее, на уровне костистых рыб, дивергентное возникновение λ-варианта L-цепи.

10.5. Организация генов иммуноглобулинов

У млекопитающих одна антигенная детерминанта способна генерировать образование сотен различных, хотя и близких по специфичности антител. Филогенетически нижестоящие позвоночные в ответ на антигенную стимуляцию также продуцируют определенный набор гетерогенных по строению антигенсвязующих участков антител, но в значительно меньшем количестве, что регистрируется по числу спектротипов (см. табл. 10.1).

Рогатая акула (Heterodontus francisci), иммунизированная гаптеном 2-фурилоксазолон или α-азобензенарсонат, по результатам изоэлектрофокусирования характеризуется ограниченным репертуаром антигаптеновых антител. При этом аффинность таких антител низкая и не меняется по мере развития иммунного ответа. Гетерогенность антител к одной антигенной детерминанте у костистых рыб также ограничена. Например, распределение IgM (Cyprinus carpio) по градиенту pH находится в пределах 4–6,4. Число спектротипов у отдельного индивидуума мало. В сумме с учетом всех проанализированных особей число изоэлектрофоретических вариантов составляет всего 23. У костистых рыб, так же как и у хрящевых, нет доказательств повышения аффинности антител по мере развития первичного и вторичного иммунного ответа.

Ограниченная гетерогенность H- и L-цепей антител к ДНФ установлена у аксолотля. H-цепи в изоэлектрофокусировании давали всего 4–5 полос. Число полос L-цепей было несколько больше, но также незначительным.

Представленные факты указывают на относительно ограниченное количество V-генов, принимающих участие в построении антигенсвязующего участка иммуноглобулинов у представителей данных таксонов.

Гетерогенность антител к гаптенам ДНФ и фосфорилхолину, по данным изоэлектрофокусирования, у X. laevis также невелика и составляют всего от 4 до 20

спектротипов, хотя аффинность антител при этом достаточно выражена. При иммунизации ДНФ-гемоцианином взрослых лягушек и головастиков различной стадии зрелости образуются антитела, аффинность которых у взрослых особей всегда выше, чем у головастиков. Для конкурентного подавления антигенсвязующей активности антител взрослой особи требуется в 2–10 раз меньше ДНФ-лизина, чем для подавления таких антител у особей с незавершенным метаморфозом. Возрастная динамика повышения аффинности антител не касается IgM-подобных антител и связана с другими классами иммуноглобулинов. Введение головастикам Т-хелперов не влияет на силу взаимодействия антител с антигеном, что свидетельствует, очевидно, об ограниченности специфических В-клонов у развивающихся особей. Продукция более высокоаффинных антител с большим диапазоном специфичностей у взрослых особей связана только с завершенностью метаморфоза.

У рептилий и птиц вариабельность антител одной антигенсвязующей активности также ограничена, а повышение аффинности хотя и происходит, но незначительно и сопоставимо с подобным повышением у амфибий. В то же время у млекопитающих число спектротипов к гаптенам ДНФ, ТНФ или фосфорилхолину доходит до 500. Значительное повышение аффинности в процессе развития первичного и вторичного иммунного ответа связано в основном с переключением синтеза IgM на IgG.

Неоднозначные возможности представителей различных классов позвоночных животных продуцировать отличающиеся по антигенсвязующему участку антител одной специфичности позволяют сделать некоторые заключения. Во-первых, ясно просматривается направленность к увеличению разнообразия и повышению аффинности антител от филогенетически менее организованных к более совершенным классам. Во-вторых, данные факты позволяют предположить, что совершенствование эффективности взаимодействия антител с антигеном через увеличение разнообразия антигенсвязующих участков обеспечивалось эволюционным путем по линии увеличения набора генов, ответственных за формирование V-доменов как тяжелых, так и легких цепей. Данные по хромосомной организации генов иммуноглобулинов подтверждают это предположение.

10.5.1. Гены тяжелых цепей

У млекопитающих число V_H-генов тяжелых цепей более 500. Общая формула, отражающая структурную организацию Н-генов, выглядит как $(V_H)n–(D_H)n–(J_H)n–(C_H)n$, где n – показатель числа отдельных генных сегментов, колеблющийся от 4 до 500 или более. Собственно V_H-гены собраны в семейство. Степень гомологии по последовательности нуклеотидов между генами одного семейства составляет не менее 80% (табл. 10.4). Участок хромосомы, в котором расположен Н-локус, включает $2–3 \cdot 10^6$ п.н.

Иной, в значительной степени неожиданной оказалась картина генной организации участка хромосомы, ответственного за синтез Н-цепей, рогатой акулы (Heterodontus francisci). Генные сегменты $V_H–D_H–J_H$ оказались близкосцепленными как между собой, так и с C_H. Формула подобной генной организации выглядит так $(V_H–D_H1–D_H2–J_H–C_H)n$. Каноническая структура кластера имеет несколько вариантов, связанных с характером сцепления между V, D и J. Слияние отдельных генных сегментов или некоторый разрыв между ними представлен помимо отмечен-

В отличие от млекопитающих память у рыб не связана с повышением аффинности антител в течение первичного и вторичного иммунного ответа и проявляется только или в основном за счет пула антигенспецифических клеток, образовавшихся после первичного контакта с антигеном. К подобному заключению пришли в результате изучения спектротипов иммуноглобулинов тихоокеанского лосося Onc. mykiss. Антитела от первично и повторно иммунизированных рыб дают идентичные или близкие спектротипы, которые к тому же не изменяются в процессе развития иммунного ответа.

Начальным событием в антителогенезе млекопитающих являются поглощение, внутриклеточное переваривание и презентация антигена в иммуногенной форме на поверхности фагоцитирующих мононуклеаров. Аналогичные процессы описаны и для рыб. Например, внесение в культуру клеток периферической крови канального сомика предварительно проинкубированных с гемоцианином моноцитов или В-клеток приводит к значительно большему накоплению антител в культуре по сравнению с культурой, куда вносили интактный антиген. Процесс трансформации антигена в иммуногенную форму требует жизнеспособных фагоцитирующих мононуклеаров. Обработка таких клеток параформальдегидом до контакта с антигеном отменяет индукцию. В то же время аналогичная обработка после поглощения и процессинга антигена существенно не влияет на формирование ответа.

Индукция антителогенеза посредством иммуногенной формы антигена, представленного на поверхности фагоцитирующего мононуклеара, подразумевает взаимодействие такого мононуклеара с клеткой-продуцентом антител. Данная форма взаимодействия давно и хорошо изучена у млекопитающих. В опытах с комплексной культурой in vitro, составленной из sIg^+- и sIg^--клеток и макрофагов канального сомика, показано, что для развития ответа на тимуснезависимый антиген достаточно двух типов клеток: макрофагов и sIg^+-лимфоцитов; ответ к тимусзависимому антигену требует участия третьего клеточного типа — sIg^-- лимфоцитов.

Необходимость помощи со стороны Т-хелперов продемонстрирована также в опытах по реализации феномена гаптен—носитель у рыб, о чем уже говорилось в гл. 9.

Представленные данные показывают, что гуморальный иммунный ответ костистых рыб имеет ряд общих черт с ответом млекопитающих: процессинг и презентация антигена в иммуногенной форме на поверхности фагоцитирующих мононуклеаров, кооперация различных типов иммунокомпетентных клеток в начальный период развития специфического ответа, формирование иммунологической памяти. В то же время выраженность иммунного ответа у рыб уступает тем количественным проявлениям ответа, который наблюдается у млекопитающих при равных условиях инициации антителогенеза. Эти количественные различия касаются как первичного, так и вторичного иммунного ответа. Кроме того, в отличие от млекопитающих у костистых рыб не происходит значительного изменения аффинности антител в процессе развития первичного и вторичного ответа, что само по себе может говорить о более слабом в количественном отношении представительстве антигенспецифических клонов В-клеток.

В классе амфибий сила гуморального иммунного ответа у представителей различных отрядов неодинаковая. Если хвостатые амфибии (Urodela) по выраженно-

ного выше следуюшими вариантами: ($V_HD_H1D_H2–J_H–C_H$), ($V_HD_H–D_HJ_H–C_H$), ($V_H–D_H–D_HJ_H–C_H$), ($V_HD_HD_HJ_H–C_H$) (рис. 10.3). C_H-гены относятся к μ-типу генов и в разных кластерах полностью идентичны. Они состоят из шести экзонов: C_H1, C_H2, C_H3, C_H4/SEC, TM1 и TM2, где SEC – секреторная часть экзона C_H4; TM1 и TM2 – экзоны, контролирующие трансмембранную последовательность. Расстояние между самостоятельными генными сегментами в кластере – не более 300 п.н. Отмечается значительная, около 60%, гомология на нуклеотидном уровне между генными сегментами акул и соответствующими сегментами млекопитающих. Один кластер содержит необходимую генетическую информацию для кодирования полной Н-цепи данного вида. Каждый кластер контролирует синтез Н-цепи одной специфичности. Предполагается, что число кластеров, разбросанных в геноме по разным хромосомам, равняется нескольким сотням. При сопоставлении этой величины с количеством специфических вариантов Н-цепей у млекопитающих (более 10^6), становится понятным относительно скромное разнообразие антител у акул по сравнению с млекопитающими. Близкая локализация V-, J-, С-генных сегментов известна и для L-цепей Heterodontus francisci.

Таблица 10.4.

Геномная организация V-локуса Н-цепи иммуноглобулинов у представителей различных классов позвоночных животных

Класс	Число V-семейств	Общее число V-генов	Число D-сегментов	Число J-сегментов
Хрящевые рыбы	–	> 200 (по числу кластеров – 1 ген в 1 кластере)	Два D-сегмента в каждом кластере	Один J-сегмент в каждом кластере
Костистые рыбы				
Кошачий сомик	7	Около 70	1 → n	≥4
Лосось	9	Около 50	1 → n	1 → n
Амфибии				
Шпорцевая лягушка	11	>100	>15	8–9
Рептилии				
Черепахи	4	700	1 → n	1 → n
Птицы				
Куры	?	80 (все псевдогены за исключением одного)	1 → n	1
Млекопитающие				
Мыши	>20	>500	15	4

Примечание. Прочерк означает, что генный признак отсутствует; 1 → n – генные сегменты представлены, но число их неизвестно; ? – вопрос не изучен.

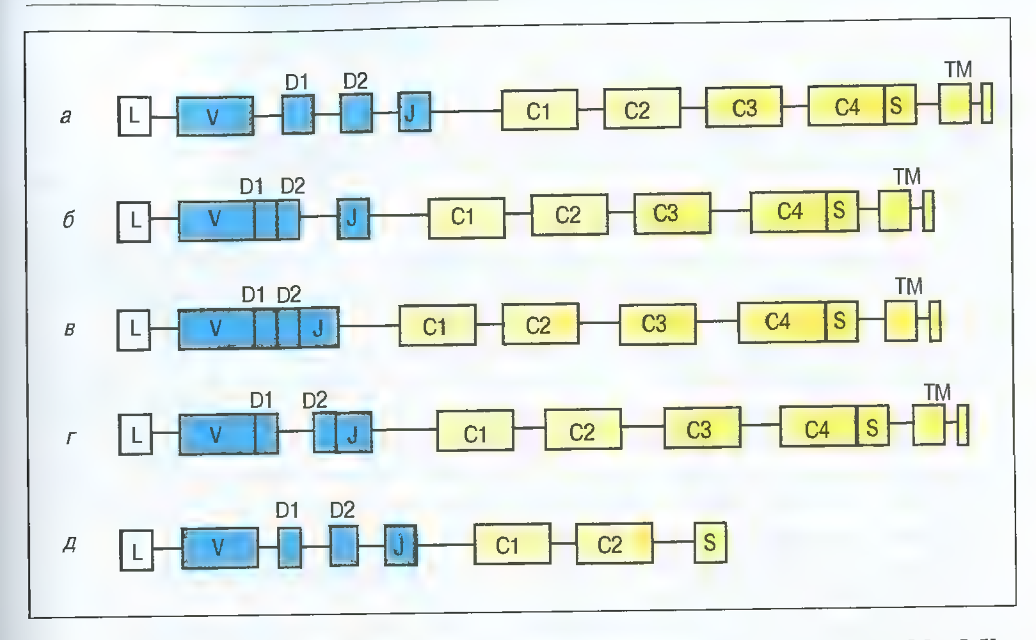


Рис. 10.3. Варианты организации генов в кластерах, контролирующих H-цепи IgM и IgX у хрящевых рыб (по: Rast et al., 1995)

а – нереорганизованный кластер V_H–D_H1–D_H2–J_H–C_H у родов Heterodontus, Raja, Hydrolagus; *б* – частично реорганизованный кластер $V_H D_H 1 D_H 2$–J_H–C_H у родов Heterodontus, Raja; *в* – полностью реорганизованный кластер $V_H D_H 1 D_H 2J$–C_H у родов Heterodontus, Raja; *г* – кластер с частично связанными сегментами $V_H D_H 1$–$D_H 2 J_H$–C_H у рода Raja; *д* – кластер IgX у рода Raja. L – гидрофобная лидерная последовательность; V – вариабельный ген; D – D-генный сегмент: J – J-генный сегмент; C1-C4 – экзоны С-гена; S – секреторный экзон; TM – трансмембранный экзон

Кластерный тип организации генов для IgM описан и для другого представителя хрящевых рыб – ската (Raja erinacea), а также для Hydrolagus colliei, входящего в большой самостоятельный подкласс хрящевых рыб Holocephali (цельноголовые).

В целом организация генов иммуноглобулинов хрящевых рыб больше напоминает таковую ТКР млекопитающих: близкое соседство в геноме V_H-, D_H-, J_H- и C_H-сегментов, как у $_\beta$ТКР и $_\gamma$ТКР; два D_H-сегмента близко сцепленны с J_H, как у $_\delta$ТКР, низкая аффинность взаимодействия продуктов этих генов с антигеном.

Этот факт невольно заставляет думать об общности происхождения двух семейств антигенраспознающих структур: ТКР и иммуноглобулинов. Вероятно, ТКР являются прямыми эволюционными предшественниками иммуноглобулинов. Подобное предположение может соответствовать действительности, учитывая более раннее возникновение в эволюции Т-клеточных форм реагирования (отторжение трансплантата, развитие реакции в СКЛ, ответ на Т-клеточные митогены и т.д.) по сравнению с возникновением В-клеточных форм ответа. Впрочем, возможно, что ТКР и иммуноглобулины имели общего, неизвестного пока предшественника, и от него шли самостоятельными эволюционными путями. В любом случае филогенетическая связь между ними налицо.

Большой интерес вызывает работа, выполненная с таким уникальным «живым ископаемым», каким является латимерия (Latimeria chalumnae), филогенетиче-

ское положение которой не ясно. V-сегменты H-цепи латимерии отделены от D-сегментов всего на 190 п.н. Подобная близость этих участков характерна для хрящевых рыб, хотя другие элементы генной организации V-локуса сходны с костными рыбами и тетраподами. Эти данные подтверждают представления о том, что латимерия занимает самостоятельную филогенетическую ветвь, близкую как костистым рыбам, так и тетраподам.

Организация генетического материала, кодирующего синтез иммуноглобулинов у костных рыб, напоминает таковую млекопитающих (рис. 10.4). Клонирование и секвенирование кДНК атлантического лосося (Salmo salar) выявило девять семейств V_H (VDJ)-генов, включающих около 50 V_H-, и одно семейство V_L-генов. При работе с геномным материалом золотой рыбки выяснилось, что данный вид костистых рыб имеет сходную с млекопитающими организацию генов для синтеза H-цепей иммуноглобулинов. Так же как у мышей, в геноме Carassius auratus представлено несколько семейств V_H-генов. Каждая семья включает около 15 таких генов. При этом у мышей одно семейство состоит приблизительно из 100 V-генов. Неожиданными оказались данные об отсутствии некоторых семейств у отдельных индивидуумов золотой рыбки. Подобные индивидуальные различия не известны для млекопитающих. Помимо функционирующих генов в геномной ДНК представлены «молчащие» гены (псевдогены).

При работе с кошачьим сомиком выявлено более четырех J_H-сегментов. Локус, включающий эти сегменты, содержит 2200 пар нуклеотидов и отстоит от C_H1-гена на расстоянии 1800 пар. Все сегменты являются, очевидно, функционирующими и вносят свой вклад в вариабельность третьего гипервариабельного участка V-домена.

Генная организация участка хромосомы, кодирующего H-цепь IgM у шпорцевой лягушки X. laevis, аналогична таковой у млекопитающих. В настоящее время описано одиннадцать семейства V_H-генов. Между V-генными сегментами и C-локусом, как и у млекопитающих, локализуются J- и D-сегменты. Всего у X. laevis не менее 100 V_H-генов в гаплоидном локусе. Это количество с учетом D- и J-сегментов обеспечивает относительно выраженную вариабельность H-цепей.

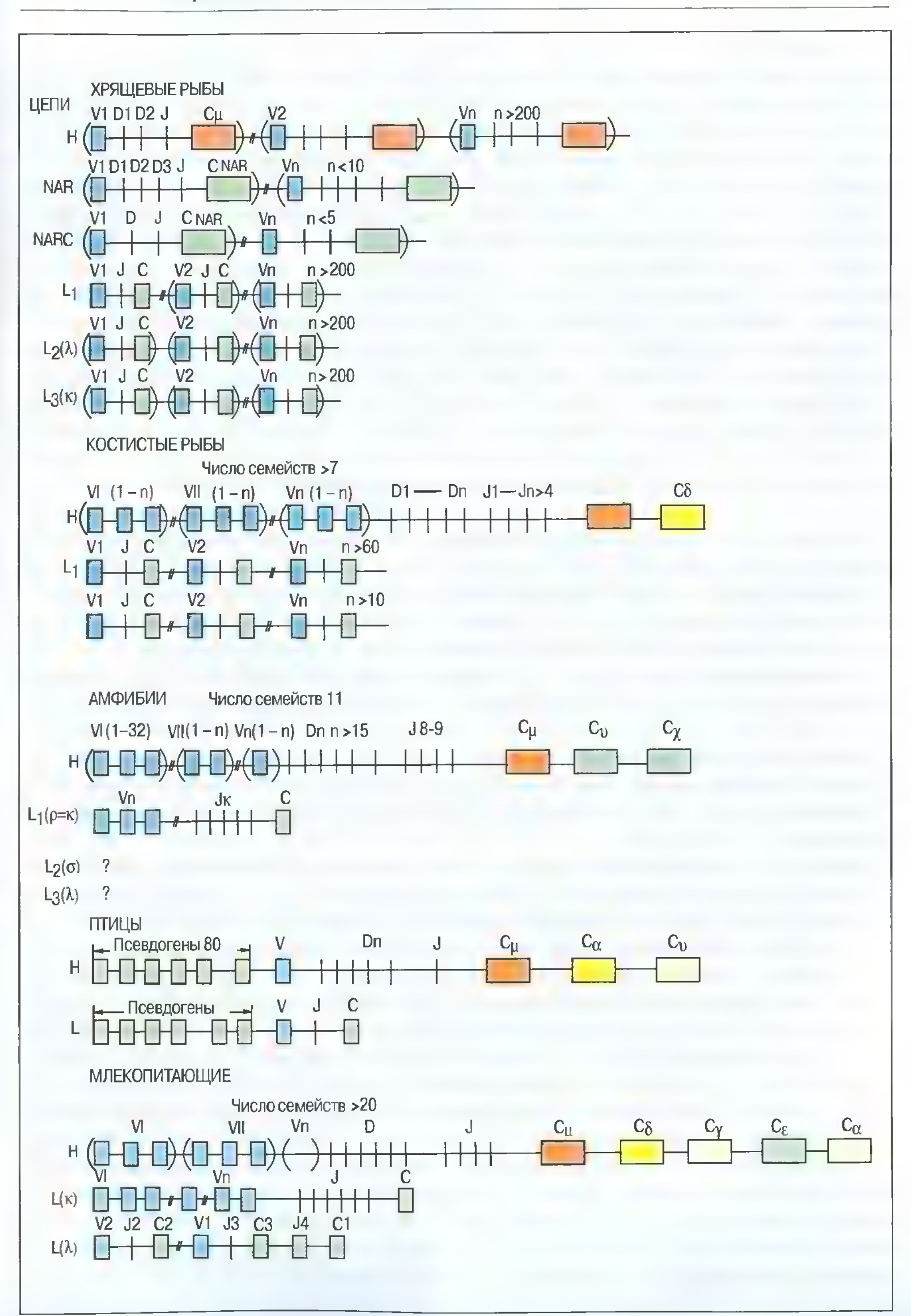
Основная организация V-генов у рептилий неотличима от млекопитающих. У черепахи Pseudemys scripta известно до 700 V_H-генов, объединенных в четыре семейства.

Неожиданные результаты получены при изучении генной организации H-цепей у птиц. Выявлено 80 генов, но все они за исключением одного-единственного оказались псевдогенами. Разнообразие H-цепей достигается за счет генной конверсии, т.е. включением дополнительных нуклеотидов от псевдогенов в информационный участок активного VJ-сегмента.

→

Рис. 10.4. Организация иммуноглобулиновых генов в различных классах позвоночных животных (по: Du Pasquier, Flajnik, 1998)

Указана последовательность локализации генов на хромосоме. Расстояние между генами условно и не отражает истинной дистанции между ними. Скобки ограничивают либо кластеры, как у хрящевых рыб, либо семейства V-генов, как в других классах животных. H – тяжелые цепи; L – легкие цепи; черные квадраты – V-гены; серые – гены H-цепей IgM (Cμ): V1, V2, Vn – нумерация V-генов; VI, VII, Vn – нумерация семейств V-генов



ХРЯЩЕВЫЕ РЫБЫ
ЦЕПИ
V1 D1 D2 J Cμ V2 Vn n >200
H
V1 D1 D2 D3 J C NAR Vn n<10
NAR
V1 D J C NAR Vn n<5
NARC
V1 J C V2 J C Vn n >200
L_1
V1 J C V2 Vn n >200
L_2(λ)
V1 J C V2 Vn n> 200
L_3(κ)
КОСТИСТЫЕ РЫБЫ
Число семейств >7
VI (1 – n) VII (1 – n) Vn (1 – n) D1 — Dn J1— Jn>4 Cδ
H
V1 J C V2 Vn n >60
L_1
V1 J C V2 Vn n >10
АМФИБИИ Число семейств 11
VI (1-32) VII(1 – n) Vn(1 – n) Dn n >15 J 8-9 Cμ Cυ Cχ
H
Vn Jκ C
L_1(ρ=κ)
L_2(σ) ?
L_3(λ) ?
ПТИЦЫ
Псевдогены 80 V Dn J Cμ Cα Cυ
H
Псевдогены V J C
L
МЛЕКОПИТАЮЩИЕ
Число семейств >20
VI VII Vn D J Cμ Cδ Cγ Cε Cα
H
VI Vn J C
L(κ)
V2 J2 C2 V1 J3 C3 J4 C1
L(λ)

Данные по хромосомной организации генов иммуноглобулинов позволяют сделать некоторые обобщения. Во-первых, число V-генов у нижестоящих на филогенетической лестнице позвоночных меньше по сравнению с более организованными формами животных. Подобные отношения находят свое проявление в сниженном числе спектротипов, а также в отсутствии или меньшей эффективности увеличения аффинности антител по мере развития иммунного ответа у представителей таксонов ниже млекопитающих. Во-вторых, сходство в структурной организации иммуноглобулиновых генов акул и γ-цепи ТКР млекопитающих позволяет предполагать определенную последовательность эволюционных событий, приведших к формированию полноценных иммуноглобулинов молекул. Возможные вехи на этом пути: однодоменный предшественник – Т-клеточный рецептор – иммуноглобулин хрящевых рыб – иммуноглобулин вышестоящих позвоночных животных. По этой схеме эволюционно наиболее близким предшественником семейства иммуноглобулинов был один из Т-клеточных рецепторов.

10.5.2. Гены легких цепей

У хрящевых рыб гены легких (L) цепей, так же как и гены H-цепей, собраны в кластеры, включающие V_L-, J_L- и C_L-сегменты. Всего известны три семьи (три типа) таких кластеров и соответственно три типа легких цепей. Кластеры типа I имеют высокую степень гомологии по нуклеотидному составу с $_\beta$ТКР млекопитающих. Данный тип включает, по крайней мере, 40 вариантов кластеров.

Геномная организация кластеров типа II аналогична таковой кластерам первого типа; значительные отличия касаются последовательности аминокислот L-цепей, контролируемых генами двух этих типов кластеров.

Третий тип кластеров сходен с двумя предыдущими по геномной организации. Однако на нуклеотидном и аминокислотном уровнях L-цепи, контролируемые генами этого типа кластеров, наиболее гомологичны κ-типу L-цепей млекопитающих.

Геномная организация генов для L-цепи костистых рыб несколько отличается от нормы. Отдельно взятый локус представляет собой несколько V_L-генов и по одному J_L- и C_L-гену. Всего копий такого локуса в геноме более 15.

Xenopus laevis обладает, по крайне мере, тремя типами легких цепей. L-цепь σ (L_σ) ассоциирована в основном с H-цепью IgM, L_ρ – с H-цепью IgY. Подобная выборочность не описана для каких-либо других видов. Гены, которые контролируют эти цепи, представлены двумя самостоятельными локусами. σ-Локус включает два семейства V_σ-генов: множества $V_\sigma1$-генов и всего несколько $V_\sigma2$-генов. V_ρ-гены характеризуются отсутствием значительной вариабельности и в результате – малой изменчивостью L_ρ-цепей. Третий тип L-цепей больше всего напоминает L-цепи млекопитающих.

Птицы имеют только один локус, контролирующий синтез L-цепи. Его нуклеотидная последовательность наиболее гомологична λ-типу легких цепей млекопитающих. L-локус птиц организован подобно локусам H-цепи этих животных и включает 25 V_L-псевдогенов и только один функционирующий V_L-ген, один J_L и один C_L.

* * *

В отличие от Т-системы, первые признаки которой обнаруживаются у первично- и вторичноротых беспозвоночных и даже у некоторых видов простейших (губок и кишечнополостных), В-система исторически развивалась, скорее всего, только в пределах подтипа позвоночных животных. Сообщения о наличии В-подобных клеток в аксиальном органе иглокожих требуют подтверждения с тем, чтобы исключить непредвиденные, случайные ошибки.

Анализ способности к антителопродукции в филогенетическом ряду ясно указывает на постепенное усиление этой иммунологической функции от менее организованных позвоночных животных к более совершенным их формам (см. табл. 10.1). Антителогенез у костистых рыб имеет ряд черт, общих с ответом млекопитающих. В-клетки рыб проходят полный путь дифференцировки, завершая его в условиях антигенной стимуляции формированием плазмоцитов. Инициация гуморального ответа, как и у млекопитающих, включает процессинг и презентацию антигена в иммуногенной форме на поверхности фагоцитирующих мононуклеаров, а также кооперацию различных типов иммунокомпетентных клеток. В ряде случаев иммунный ответ рыб сопровождается созданием иммунологической памяти, хотя и в слабой форме.

В то же время напряженность гуморальной реакции рыб уступает тем количественным показателям, которые регистрируются у более высокоорганизованных позвоночных животных. Кроме того, несовершенство В-системы рыб проявляется в отсутствии изменения аффинности антител по мере развития первичного и вторичного иммунного ответа и в незначительном количестве спектротипов иммуноглобулинов. Подобные факты указывают на относительно малое число «работающих» V-генов иммуноглобулинов и соответственно на незначительное количество предетерминированных В-клонов.

Специальный интерес представляют амфибии. В пределах этого класса менее организованные хвостатые амфибии, ведущие постоянный водный образ жизни, по характеру иммунного ответа тяготеют к рыбам. Более успешный отряд хвостатых амфибий, впервые в эволюции вышедший на сушу, приобретает ряд прогрессивных черт в отношении иммунной системы. Как уже отмечалось, переход от водного к наземному образу жизни помимо морфофункционального прогресса в целом требовал совершенства всей системы иммунной защиты. Это требование инициировалось неизбежной встречей с новой группой наземных патогенных микроорганизмов. Из прогрессивных черт, касающихся В-системы бесхвостых амфибий, следует отметить следующие: возникновение функционирующего костного мозга — источника В-клеток; приобретение способности к созданию достаточно эффективной иммунологической памяти; наличие механизмов повышения аффинности антител по мере развития иммунного процесса; приобретение дополнительных изотипов иммуноглобулинов. Все эти вновь развившиеся положительные черты, касающиеся гуморального иммунного ответа, эволюционно закрепляются у рептилий и птиц, достигая своего совершенства у млекопитающих.

Важное место при изучении эволюционного становления В-системы иммунитета занимает вопрос о сравнительной организации генов иммуноглобулинов. Из представленных данных о кодировании иммуноглобулинов у акул в виде генных кластеров следует, что первоначально генетическая детерминация специ-

фичности иммуноглобулинов соответствовала принципу «один ген – одна полипептидная цепь », где V, D, J и C выступали в качестве экзонов единого локуса. Разнообразие иммуноглобулинов на первых этапах эволюции позвоночных строилось посредством классического механизма тандемных, генных дупликаций. Вероятно, адаптационное значение все увеличивающегося пула специфических иммуноглобулинов было столь велико (а возможности генома к расширению набора V, D, J, C-кластеров небезгранично), что природа выбрала иной генетический механизм к обеспечению все расширяющегося по специфичности разнообразия иммуноглобулинов. Гены для V- и C-областей заняли самостоятельные локусы на хромосоме, демонстрируя принцип «два гена – одна полипептидная цепь». Такая хромосомная организация соответствующих генов обеспечивала их независимое генетическое преобразование через мутационный процесс, транслокацию, конверсию. Действительно, создались условия для накопления V-генов независимо от C-генов, что привело к явной экономии потенциальных возможностей генома клетки. С другой стороны, самостоятельная «жизнь» C-генов реализовалась в дупликации генетического материала для изотипов иммуноглобулинов. При такой организации генетического материала эволюция V- и C-генов пошла самостоятельными путями и обеспечила функциональный дуализм иммуноглобулинов.

Завершая эту главу, следует подчеркнуть, что сравнительный анализ органных, клеточных и молекулярных структур B-системы иммунитета ясно демонстрирует историческую направленность этой системы по линии морфофункционального прогресса от хрящевых рыб к млекопитающим. Адаптационный, противоинфекционный смысл такого развития очевиден. Однако был ли он связан только с защитой от внешних патогенов или обеспечивал какие-то физиологические функции, связанные с индивидуальным развитием животных, не ясно.

Глава 11. ЭВОЛЮЦИЯ СУПЕРСЕМЕЙСТВА ИММУНОГЛОБУЛИНОВ

Изучение последовательности аминокислотных остатков тяжелых и легких цепей иммуноглобулинов позволило установить наличие в структуре молекулы гомологичных друг другу участков. Каждый такой участок имеет внутрицепьевую дисульфидную связь, которая стабилизирует его конформацию. Гомологичные друг другу последовательности в структуре иммуноглобулинов стали называть доменами. Доменная гипотеза построения иммуноглобулинов, впервые высказанная Дж. Эдельманом в 1969 г., подразумевала эволюционное происхождение цепей иммуноглобулинов от однодоменной формы. Предковый ген однодоменного предшественника в результате тандемной дубликации образовал локус, кодирующий полноценную иммуноглобулиновую цепь. Подтверждением этой точки зрения явилось обнаружение гомологии между иммуноглобулинами и однодоменными белками: Thy-1-антигеном (маркером тимоцитов и T-клеток), β_2-микроглобулином (β_2-м), входящим в состав молекул I класса главного комплекса гистосовместимости (MHC) и присутствующим в моче пациентов с почечными заболеваниями, P_0 – белком миелина нервной ткани. Первый и третий из этих однодоменных белков оказались гомологичны V-доменам, второй – C-доменам иммуноглобулинов.

Всестороннее изучение особенностей организации белков, принимающих участие в различных иммунологических процессах, позволило установить, что среди них имеется значительное количество таких, которые по основным структурным требованиям (гомологии иммуноглобулинам и доменной организации полипептида) могут быть объединены в единую молекулярную систему (табл. 11.1 и 11.2; рис. 11.1). В нее включены молекулы Т-клеточного антигенраспознающего комплекса, молекулы I и II классов MHC, корецепторы Т-клеток CD4 и CD8, однодоменные белки – Thy-1, β_2-м, P_0. Значительное место здесь занимают адгезины и рецепторные молекулы, способствующие контактному взаимодействию иммунокомпетентных клеток или адсорбции различных классов иммуноглобулинов на клеточной поверхности. Вся эта группа близкородственных белков составляет единое суперсемейство иммуноглобулинов. О выраженном представительстве иммуноглобулинподобных белков в организме говорит тот факт, что среди около 200 CD-антигенов млекопитающих более 30% относятся к этому молекулярному объединению. Более того, на лимфоидных клетках одна треть поверхностных молекул – это члены суперсемейства иммуноглобулинов.

Таблица 11.1.

Примеры молекул, относящихся к суперсемейству иммуноглобулинов (IgSF) у млекопитающих

Категория	**Число аминокислотных остатков**	**Вид**
Иммуноглобулины:		
H-цепь (IgM)	572	Мышь
L-цепь κ-типа	214	Мышь
L-цепь λ-типа	213	Мышь
Т-клеточный рецепторный (ТКР) комплекс:		
ТКР:		
α-цепь	250	Мышь
β-цепь	282	Мышь
γ-цепь	286	Мышь
CD3:		
γ-цепь	160	Человек
δ-цепь	150	Человек
ε-цепь	185	Человек
Главный комплекс гистосовместимости (MHC):		
класс I		
H-цепь	339	Человек
β_2-микроглобулин	120	Человек
класс II		
α-цепь	229	Человек
β-цепь	237	Человек

Таблица 11.1 (окончание).

Категория	Число аминокислотных остатков	Вид
Антигены, связанные с β_2-микроглобулином:		
TLa H-цепь	335	Мышь
Qa H-цепь	313	Мышь
CD1a H-цепь	311	Человек
Адгезивные молекулы Т-клеток:		
CD2	322	Крыса
LFA-3 (функциональный антиген лейкоцитов-3)	207	Человек
Дифференцировочные антигены субпопуляций Т-клеток:		
CD4	435	Человек
CD8	210	Крыса
CTLA4 (антиген цитотоксических Т-лимфоцитов-4)	188	Мышь
Антигены мозга и лимфоидной ткани:		
Thy-1 (антиген тимоцитов и Т-клеток)	111	Крыса
MRC OX2 (антиген мозга и лимфоидной ткани)	248	Крыса
Рецепторы к иммуноглобулинам:		
Poly-IgR (рецептор к ряду изотипов иммуноглобулинов)	755	Кролик
Fcγ2b/γ1R (рецептор к Fc-фрагменту IgG2b и IgG1)	351	Мышь
Молекулы нервной ткани:		
NCAM (адгезивные молекулы нервных клеток)	1072	Курица
MAG (адгезивный гликопротеин миелина)	610	Крыса
P_0 (белок миелина)	219	Крыса
Рецепторы к ростовым факторам:		
PDCF (рецептор к ростовому фактору тромбоцитов)	1067	Мышь
CSF-1R (рецептор к колониестимулирующему фактору)	953	Человек
Молекулы, не связанные с клеточной поверхностью:		
α1B-гликопротеин	474	Человек
LINK (белок сцепления)	339	Крыса

Примечание. H-цепь – тяжелая цепь иммуноглобулинов и молекул I класса главного комплекса гистосовместимости; L-цепь – легкая цепь иммуноглобулинов; CD – кластеры, обозначающие определенные антигены клеток; Tla, Qa – дополнительные молекулы I класса главного комплекса гистосовместимости.

Таблица 11.2.

Функциональная активность молекул, родственных иммуноглобулинам

Молекулы и их клеточная экспрессия	Функция	Распознавание с участием других членов суперсемейства
Иммуноглобулины В-клетки	Антигенраспознающие рецепторы В-клеток (sIg), антитела	sIg и антитела распознают антиген самостоятельно, без включения дополнительных молекул
Т-клеточные рецепторы (ТКR) Т- клетки и тимоциты	Антигенраспознающие рецепторы Т-клеток, растворимые формы неизвестны	Гетерофильны: ТКР связывает комплекс пептида с молекулами I или II классов МНС, но при этом распознавание не включает Ig-подобные домены МНС
CD3-цепи Т-клетки и тимоциты	Часть Т-клеточного рецепторного комплекса; передача сигнала внутрь клетки	CD3 ассоциированы с ТКР; способность взаимодействовать с другими молекулами неизвестна
Молекулы МНС Многие типы клеток	Презентация пептидов для распознавания ТКР; известны растворимые формы	Гетерофильны; взаимодействие с ТКР
β_2-Микроглобулин Субпопуляции Т-клеток	Функция неизвестна	Естественные лиганды неизвестны
Адгезивные молекулы Т-клеток CD2 на тимоцитах и Т-клетках (некоторых макрофагах у крыс); LFA-3 на многих клетках	CD2 Т-клеток взаимодействуют с LFA-3 на других клетках в реакциях клеточной адгезии; анти-CD2-антитела могут инициировать пролиферациюТ-клеток	Гетерофильны; CD2 взаимодействуют с LFA-3
Маркеры субпопуляций Т-клеток CD4 и CD8 на различных субпопуляциях Т-клеток и тимоцитов; CD4 на макрофагах; CD8 на НК-клетках	CD4 и CD8 способствуют взаимодействию Т-клеток с молекулами I или II классов МНС	Гетерофильны: CD4 и CD8 могут связывать молекулы II и I классов МНС соответственно

Таблица 11.2 (продолжение).

Молекулы и их клеточная экспрессия	**Функция**	**Распознавание с участием других членов суперсемейства**
CTLA 4 на активированных Т-клетках	Функция неизвестна	Неизвестно
Антигены лимфоидной ткани и мозга		
Thy-1 на нейронах, фибробластах, тимоцитах и Т-клетках	Анти-Thy-1-антитела инициируют пролиферацию Т-клеток мышей	Природные лиганды неизвестны
MRC OX-2 на нейронах, эндотелиальных клетках, различных лимфоидных клетках	Функция неизвестна	
Иммуноглобулиновые рецепторы		
PolyIgR на эпителиальных клетках кишечника и печени	PolyIgR транспортирует IgA или IgM через эпителий	Гетерофильны; первый домен PolyIgR связывает IgA
Fcγ2b/γ1R на макрофагах	Fcγ2b/γ1R связывает агрегированный IgG	
Молекулы нервной ткани		
NCAM на нейронах и глии, клетках раннего эмбрионального развития	Обусловливает адгезию нервных клеток	Гомофильное взаимодействие посредством Ig-подобных доменов
MAG на периферическом и центральном миелине, некоторых нейронах	Функционирует при образовании миелина	Природные лиганды неизвестны
P_0 на периферическом миелине	Составляет 50% белков периферического миелина	Возможна гомофильность
CEA		
Эпителиальные клетки и их опухоли, клетки раннего эмбрионального развития	Маркер опухолей, но функция неизвестна	Природные лиганды неизвестны

Таблица 11.2 (окончание).

Молекулы и их клеточная экспрессия	**Функция**	**Распознавание с участием других членов суперсемейства**
Рецепторы ростовых факторов		
PDGFR широко представлен на мезенхимальных клетках; CSF1R – на клетках моноцитарного ряда	Взаимодействуют с ростовыми факторами для активации пролиферации клеток	Неизвестно взаимодействие с молекулами, отличающимися от ростовых факторов
Белок сцепления (LINK)	Действует как молекула сцепления между протеогликаном и гиалуроновой цепью	Отсутствует
α_1В-гликопротеин (представлен в сыворотке)	Функция неизвестна	Природные лиганды неизвестны

При рассмотрении вопроса об эволюции суперсемейства, необходимо обратить внимание на следующее.

Во-первых, в основе возникновения всего суперсемейства лежали гены, контролировавшие однодоменные белки; обычные генетические процессы в зародышевых линиях развития: случайные мутации, тандемные дупликации, транслокации, делеции и конверсии, продолженные во времени, дали то разнообразие членов суперсемейства, которое мы имеем сегодня. Во-вторых, необходимо если не решить, то, по крайней мере, найти подходы к решению вопроса об эволюционном возникновении способности к специфическому иммунному распознаванию антигенной чужеродности («не своего»), т.е. к пониманию движущих сил возникновения специфического иммунитета, определению грани, когда неспецифические лигандные отношения перешли в специфическое взаимодействие (Williams, Barclay, 1988; Галактионов, 1992,1995; Du Pasquer, Flajnik, 1998; Фонталин, 2000).

11.1. Основные критерии включения молекул в суперсемейство иммуноглобулинов

Основными критериями включения белков в суперсемейство являются определенная пространственная организация молекул и статистически достоверная гомология с известными иммуноглобулинами. Каждый домен, входящий в состав иммуноглобулина, представляет собой двухслойное молекулярное образование, построенное по принципу нескольких антипараллельных β-структур, стабилизированных связями –S–S–. В результате образуется молекулярная, конформаци-

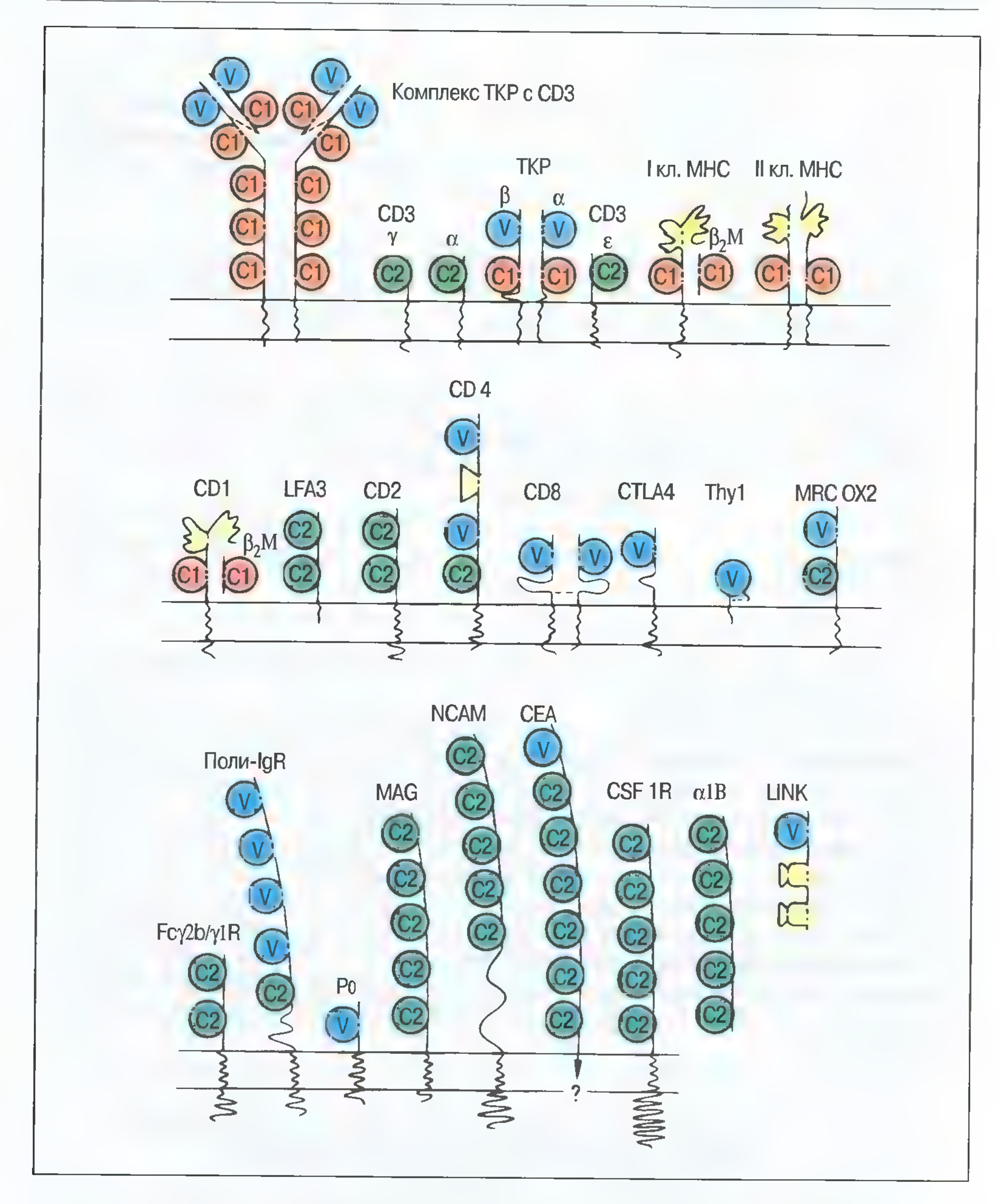


Рис. 11.1. Доменная организация членов суперсемейства иммуноглобулинов

CD1, CD2, CD4, CD8, CTLA 4, MRC OX2 – маркеры Т-клеток; LFA-3 – адгезивный белок клеток: Fcγ2b/γ1R – рецептор к IgG2b и IgG1 на макрофагах; поли-IgR – рецептор эпителиальных клеток кишечника и печени, обеспечивающий транспорт IgM и IgA через эпителий; MAG – белок миелина: NCAM – белок нейронов, глии и эмбрионов раннего периода развития; CEA – маркер эпителиальных клеток и их опухолей; CSF 1R – рецептор для колониестимулирующего фактора; α1B – гликопротеин сыворотки крови: LINK – белок сцепления, соединяющий протеогликан с гиалуроновой цепью

онная структура, свойственная только членам суперсемейства иммуноглобулинов. В англоязычной литературе она получила обозначение Ig-fold (иммуноглобулиновая складчатость) (рис. 11.2). Всего выделяют четыре основных типа доменов: V1, V2, C1 и C2. V-домен имеет четыре β-структуры в каждом слое и один дополнительный β-сегмент (C″), соединяющий два молекулярных β-слоя. 65—75 аминокислотных остатков домена данного типа составляют участок полипептидной цепи, ограниченной цистеиновым мостиком. У C-доменов отсутствует петля между C′ и C″. У C2-домена отсутствует C″-структура. В связи с этим C2-домен имеет более короткую полипептидную цепь по сравнению с C1. Число аминокислотных остатков у C-доменов, ограниченных цистеиновой связью, меньше, чем у V-доменов, и равно 55—60.

Таким образом, для включения анализируемого домена в состав суперсемейства необходимо установить сходство его пространственной организации с V- или C-доменами иммуноглобулинов.

Вторым критерием для включения анализируемых доменов и построенных из них белков в состав суперсемейства служит гомологичность их аминокислотной последовательности доменам иммуноглобулинов. V-домены подразделяют на «классическую» форму организации, контролируемую V-геном и J-сегментом, отделенным от V-гена интронной частью, и дополнительную V2-группу, контролируемую только V-геном. Участие J-сегмента существенно в формировании разно-

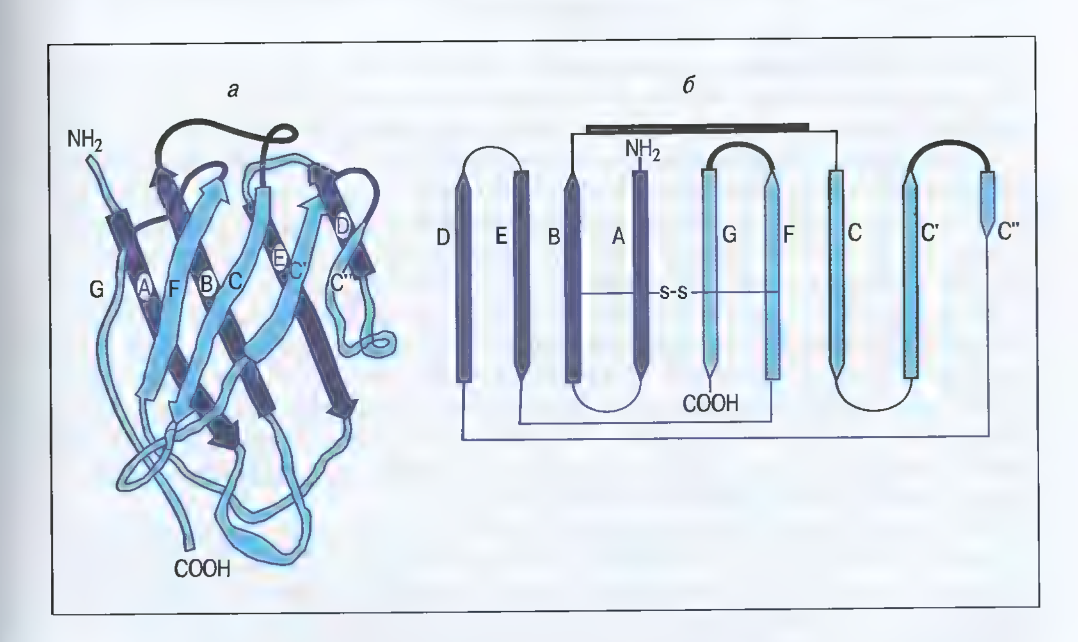


Рис. 11.2. Структурная организация V-домена (по: Barclay, 1999)

а — диаграмма кристаллографического анализа V-домена тяжелой цепи миеломного белка New человека, демонстрирующая характер двухслойной складчатости (Ig—fold) данного домена; *б* — схема связи между β-структурными слоями и α-спиральными положениями; черные линии — гипервариабельные участки

11. Заказ № 67.

образия V-доменов в их CDR3-регионе (третьем регионе, обеспечивающем комплементарность, или третьем гипервариабельном участке) через процесс рекомбинации. Основная V1-группа состоит из вариабельных доменов изотипов иммуноглобулинов (Ig) и антигенраспознающих Т-клеточных рецепторов (ТКР). При этом такие белки суперсемейства, как корецепторы Т-клеток – CD4 и CD8, polyIgR (рецептор к различным изотипам Ig), CEA (адгезин клеток эпителия), MRC OX-2 (маркер Т-лимфоцитов), LINK (белок сцепления млекопитающих), NITR (новый рецептор иммунного типа костистых рыб) имеют в своей структуре V2-домены.

C1-группа объединяет домены константной части иммуноглобулинов, С-домены Т-клеточного рецептора и молекул I и II классов MHC. К этой же группе относится однодоменный белок β_2-м – один из предковых белков всего суперсемейства.

В С2-группу входят домены полипептидов с адгезивными и рецепторными свойствами. Среди членов суперсемейства они занимают доминирующее положение (см. рис. 11.1).

11.2. Генная организация и распространенность членов суперсемейства иммуноглобулинов (IgSF) в царстве животных

Использование метода клонирования кДНК выявило крайне широкое представительство в мире животных генов и контролируемых ими белков, относящихся к IgSF. Состав членов IgSF выглядит следующим образом.

У прокариот (грамотрицательных бактерий Escherichia coli, Haemophilus influenzae, Klebsiella pneumoniae) структурой Ig-fold характеризуются шапероны, принимающие участие в построении пилей адгезии. Кроме того, бактерии имеют участки в структуре некоторых белков, соответствующие иммуноглобулиновым доменам (Holmgren et al., 1992; Bateman et al., 1996).

Белки P_0 и Thy-1, входящие в одну и ту же V2-группу, также являются наиболее ранними эволюционными образованиями, так как представляют собой однодоменные белки, не связанные на клеточной поверхности с какими-либо другими белками (табл. 11.3 и рис. 11.3). При этом ген, контролирующий синтез P_0, имеет в средней части интрон. Это обстоятельство позволяет предположить его происхождение от гена для полудоменного пептида, составляющего один из β-структурных слоев в современных доменах IgSF.

В результате тандемной дупликации гена для наиболее раннего полудоменного предшественника сформировался P_0-подобный белок. Прошедшая делеция интронной части гена P_0 обеспечила возникновение гена-предшественника для антигена Thy-1. Полипептиды, серологически родственные белку Thy-1 млекопитающих, обнаружены у птиц, рептилий, рыб, дождевых червей, туникат, головоногих и брюхоногих моллюсков, одноклеточных эукариот и прокариот.

Гликопротеин Thy-1 из нервной ткани кальмара (головоногий моллюск) содержит 84 аминокислотных остатка и включает блок из пяти аминокислот, последовательность которых встречается только у антигена Thy-1 грызунов и неизвестна для других белков (Галактионов, 1995).

Таблица 11.3.

V-домены в составе иммуноглобулинподобных белков у представителей различных систематических групп

Молекулярная формула и обозначение белков	**Таксономическая группа**
1. V2 (Thy-1, B-G, P_0, CD8, CTLA 4)	Thy-1 – широкое представительство в мире животных от одноклеточных про- и эукариот до высших позвоночных животных. B–G – птицы. P_0, CD8, CTLA 4 – млекопитающие
2. V2–V2 (SAM, RTK, DTRK)	SAM, RTK – губки (Geodia cydonium). DTRK – насекомые (Drosophila melanogaster)
3. V2–C2 (CTX, ChT1, CTM, CTH, A33, CD2, MRC OX2, CD80, CD86, CD58, hCAR)	CTX – амфибии (Xenopus). ChT1 – птицы. CTM – мыши. CTH – человек. CD2, MRC OX2, CD80, CD86, CD58, hCAR, A33 – млекопитающие
4. V2–C2–C2 (амальгам, латцесин, тактил)	Амальгам, латцесин – насекомые (Drosophila). Тактил – млекопитающие
5. V2–C2–C2–C2–C2–C2–C2 (CEA)	Млекопитающие
6. V2–V2–V2–V2–C2 (поли-IgR)	Млекопитающие
7. V2–V2/C2 (NITR)	Костистые рыбы (собака-рыба, зебра-рыба)
8. V1–C1–C1–C1–C1–C1 (NAR)	Хрящевые рыбы (рогатая акула)
9. $(V1–D–J–C1)_n$ кластеры (IgH, TKP)	Хрящевые рыбы (акула-нянька и др.)
10. $V1_n–D_n–J_n$-------$C1_n$ (IgH, TKP)	Челюстноротые позвоночные животные

Примечание. SAM – адгезивная молекула губок; RTK – рецепторная тирозинкиназа; DTRK – рецепторная тирозинкиназа дрозофилы; CTX, ChT1, CTM, CTH – молекулы кортикальных тимоцитов шпорцевой лягушки, курицы, мыши, человека; A33, hCAR – молекулы человека; CEA – антиген клеток эпителия; NITR – новый рецептор иммунного типа; NAR – новый антигенный рецептор; IgH – H-цепь иммуноглобулина. Остальные сокращения см. табл. 11.1.

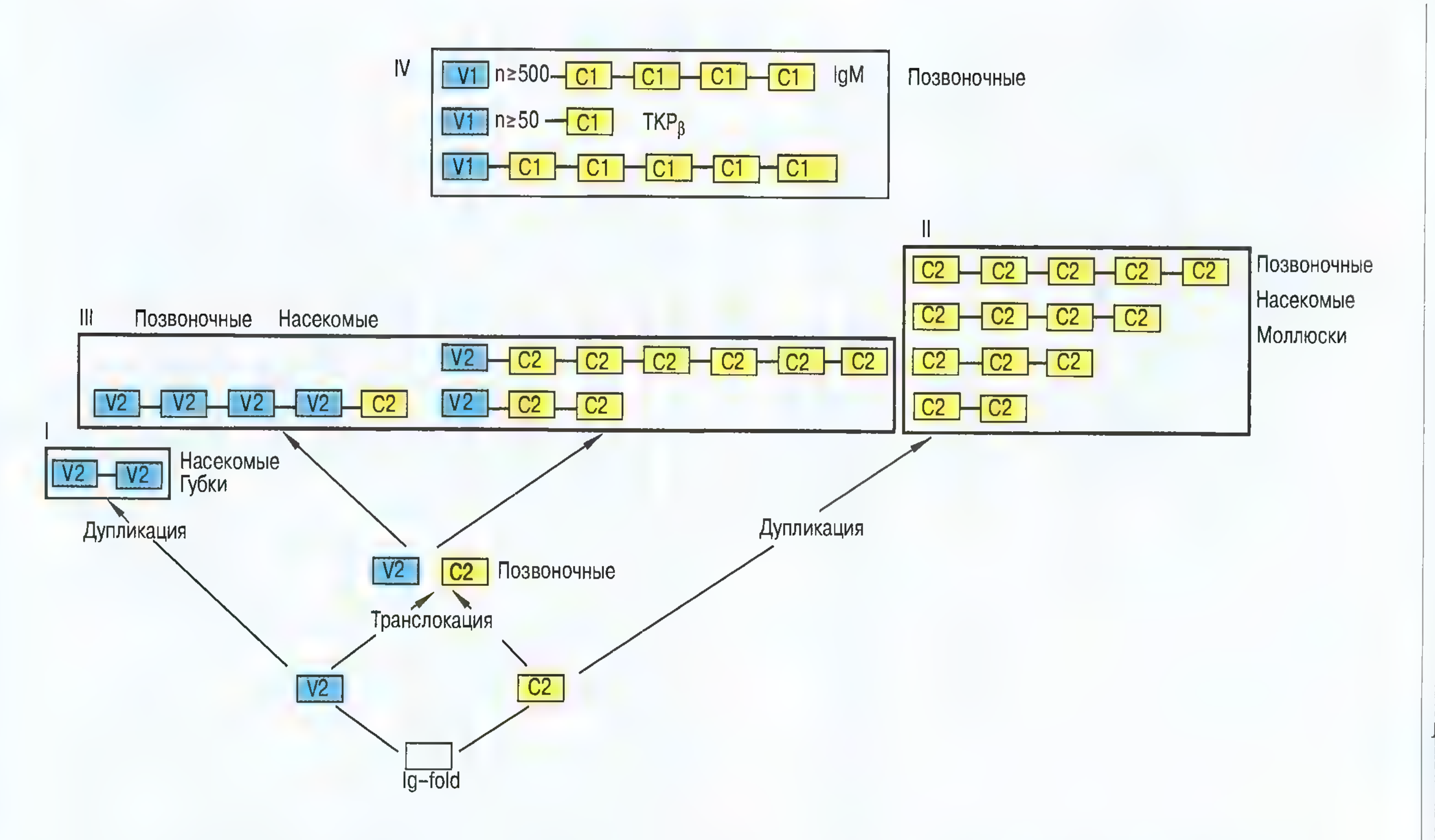


Рис. 11.3. Процессы дупликации и транслокации при эволюционном образовании членов IgSF
Объяснение см. в тексте

Функциональное предназначение антигена Thy-1 точно не определено. Возможно, крайне раннее его появление в филогенезе связано с процессом возникновения многоклеточных, когда он выступал в качестве одного из поверхностных молекулярных факторов межклеточной адгезии, используя механизм гомофильного межклеточного взаимодействия, т.е. контактного взаимодействия «своего» со «своим» (Barclay, 1999).

Гену Thy-1 сопутствовал явный эволюционный успех. Именно ему суждено было стать прародителем V-генов всего IgSF. Распространенность V-генов в суперсемействе обеспечивалась обычными генетическими процессами: тандемными дупликациями, транслокациями, делециями, точечными мутациями, реорганизацией генных сегментов для V-доменов ТКР и иммуноглобулинов.

Примером наиболее раннего тандемного события в исторической ретроспективе являются гены, контролирующие два белка суперсемейства: SAM (адгезивная молекула губок) и RTK (рецепторная тирозинкиназа) у наиболее примитивного многоклеточного – губки Geodia cydonium (см. табл. 11.3 и рис. 11.3). Эти белки имеют два поверхностных V-домена, трансмембранный и хвостовой участки. Изучение нуклеотидной и аминокислотной последовательностей RTK выявило, что первый V-подобный домен наиболее близок к V_{λ}, второй V_H – человека. Известно около 40 полигенных копий данного белка. Экспрессия RTK повышается при ауто- и аллотрансплантации. Все эти факты крайне важны для понимания уровня возникновения первых признаков специфического иммунитета в мире животных.

Другой белок SAM при наличии тех же двух внеклеточных V-подобных доменов обладает разными по длине хвостовыми регионами. При аутотрансплантации значительно увеличивается экспрессия белка с длинным хвостовым регионом, включающим процессы, которые обеспечивают через каскад тирозинкиназ клеточную активацию. Вариант SAM с коротким хвостовым регионом, ингибирующим активацию клеток, также увеличивает свою экспрессию, хотя и в меньшей степени. Авторы этой серии исследований (руководитель работ W.E. Muller. Mainz Universitat, Germany) полагают, что губки уже имеют как признаки неспецифического иммунитета с активностью, аналогичной KIR-рецепторам у млекопитающих и других позвоночных животных, так и первыми признаками адаптивного иммунитета, проявляющегося при аллотрансплантации (Gamulin et al., 1994; Schacke et al., 1994; Skorohod et al., 1997; Pancer et al., 1996, 1998; Muller et al., 1999; Wimmer et al., 1999; Blumbach et al., 1999; Schutze et al., 2001).

К категории белков, контролируемых двумя V-подобными генами, относится также DTRK (рецепторная тирозинкиназа дрозофилы). Экспрессия DTRK-генов связана с эмбриональным развитием нервной системы у данного вида. Одно из свойств соответствующего белка, крайне важного для темы, поднятой здесь, – это его способность к гомофильному взаимодействию (Pulido et al., 1992).

Процесс тандемных дупликаций – увеличение числа копий исходного, предкового локуса, известен и для С2-генов (табл. 11.4 и рис. 11.3, II). Предковый С2-ген дал набор повторяющихся гомологичных генов, которые контролируют белки с адгезивными и антибактериальными свойствами в различных систематических группах. Существенными в этой С2-группе являются двух- и трехдоменные белки KIR – рецепторы, ингибирующие активность натуральных киллеров. Эволюционно они возникли давно. KIR-рецепторы известны у дождевых червей и моллюсков (Franceschi et al., 1991). Взаимодействие KIR с молекулами I класса МНС говорит о переходе гомофильных форм клеточного взаимодействия к гетерофильному

рецепторному взаимодействию. К этой же С2-группе относятся индуцибельные антибактериальные факторы беспозвоночных: гемолин (Р4) насекомых (Sun et al., 1990) и MDM (защитная молекула моллюсков) (Hoek et al., 1996).

Таблица 11.4.

Иммуноглобулиноподобные белки, включающие только С2-домены

Молекулярная формула и обозначение белков	Таксономическая группа
С2 (CD3 γδε)	CD3 γδε – челюстноротые позвоночные животные (от хрящевых рыб до млекопитающих)
С2–С2 (или С2–С2–С2) (KIR, Fcγ2b/γ1R)	KIR – беспозвоночные (функ.), позвоночные. Fcγ2b/γ1R – млекопитающие
С2-С2-С2-С2 (гемолин)	Насекомые
С2-С2-С2-С2-С2 (MDM, MAG, NCAM, CSF1R, α1B)	MDM – моллюски. MAG, NCAM, CSF1R, α1B – млекопитающие

Примечание. KIR – ингибиторный рецептор киллеров; MDM – защитная молекула моллюсков. Остальные сокращения см. табл. 11.1.

Второй важный генетический процесс, имевший место при формировании Ig-подобных локусов, связан с явлениями транслокации генетического материала. Действительно, члены IgSF, имеющие V2–C2- и V1–C1-комбинации доменов, могли образоваться в результате перемещения в составе транслокона гена С в участок хромосомы, занятый геном V (или наоборот). Наличие некодируемого (подчас очень значительного) разрыва между V- и С-генами говорит о такой возможности. В табл. 11.3 представлены члены IgSF, имеющие V2–C2-комбинации генетического материала разной степени сложности.

Наиболее просто организованы локусы для СТХ (рецептор кортикальных тимоцитов Xenopus), СТН (рецептор кортикальных тимоцитов человека) и других двухдоменных белков (см. табл. 11.3, строка 3). СТХ шпорцевой лягушки Xenopus laevis представляет собой димерный белок с молекулярной массой 55 кДа. Каждая цепь состоит из одного V2- и одного С2-домена, трансмембранного региона и достаточно длинного цитоплазматического хвоста (70 аминокислотных остатков), обладающего активирующим мотивом. Этот последний факт говорит о способности данного рецептора активировать клетки после взаимодействия с лигандом. V2-домен СТХ кодируется нереорганизуемым геном, характерной особенностью которого является наличие интронной части между двумя экзонами. Аналогично построен ген и для С2-домена. Наличие интронного разрыва у V-гена, подобного таковому у гена для P_0-белка, говорит о древности его происхождения (Chretien et al., 1996, 1998; Robert, Cohen, 1998; Du Pasqiuer et al., 1999; Robert et al., 2001). Гены, высокогомологичные СТХ и с тем же типом организации, обнаружены также у кур (ChT1), мышей (СТМ), человека (СТН) (Du Pasqiuer, Flajnik, 1998). Консерватизм V2–C2-генов в эволюционной линии позвоночных с учетом особенностей их построения говорит о древности происхождения всей генетической конструкции V2–C2.

Процесс тандемных дупликаций касался не только отдельных С- и V-генов, но и их сочетания – генных блоков V–C, в том числе тех, которые усложнены включением D- и J-сегментов: (V–D–J–C) или (V–J–C). В результате сформировался кластерный тип контроля за специфичностью антигенраспознающих молекул: ТКР и иммуноглобулинов (см. табл. 11.3, строка 9) (Rast et al., 1995; Rast, Litman, 1998; Marchalonis et al., 1998; Litman et al., 1999). У акулы-няньки таких кластеров для Н-цепи IgM более 200. Процесс увеличения количества кластеров явно находился под давлением положительного отбора, расширяя возможности организма в защите от патогенов, нейтрализации «не своего». Однако подобный тип генетической организации в работе иммунной системы имел определенные пределы, связанные с величиной генома, невозможностью все увеличивающегося наращивания локусов кластерного типа организации. Природа создала иной путь обеспечения выраженного многообразия иммуноглобулинов – путь рекомбинаций, когда специфичность ТКР и иммуноглобулинов создается в результате случайного сочетания V-, D-, J-генных сегментов при участии RAG1/RAG2. Рубежом в данном случае являются, очевидно, хрящевые рыбы. Именно у представителей этого класса имеются локусы как со слитым VJ-геном (V2), так и разделенным, подверженным рекомбинациям V-(D)-J (Rast et al., 1995; Lee et al., 2000).

Особое место среди членов суперсемейства занимает Ig-подобный белок NITR (новый рецептор иммунного типа). Белок обнаружен у костистых рыб: у собаки-рыбы (Spheroides nephelus) и у рыбы-зебры (Danio rerio). Он имеет нереорганизуемый V-домен – домен, обладающий сходством как с V-, так и С2-доменами (V/C2), а также трансмембранный и хвостовой регионы (см. табл. 11.3, строка 7). Существенными особенностями этого нового рецептора являются, по крайней мере, два свойства. Это – наличие в хвостовом, цитоплазматическом регионе последовательности (ингибирующего мотива), блокирующей активацию клетки после взаимодействия рецептора с лигандом. Таким свойством обладает, например, KIR-рецептор натуральных киллеров (НК-клеток) у млекопитающих и других позвоночных. Как уже отмечалось, он препятствует НК-клеткам оказывать цитотоксическое действие на собственные клетки организма. KIR, относящийся к IgSF, состоит из двух или трех С2-доменов. V-домены у него отсутствуют.

Второе существенное свойство NITR – это наличие в его структуре нереорганизуемого V2-домена. При этом CDR1 (первый гипервариабельный регион) и CDR2 (второй гипервариабельный регион) в семействе NITR-генов конституционно изменчивы, т.е. представлены несколькими десятками копий и их вариабельность обеспечивает набор разных по специфичности NITR. У собаки-рыбы самостоятельных по специфичности NITR – 26; у рыбы-зебры – 40. Гены, контролирующие эти белки, образуют в хромосомах единые кластеры, включающие соответственно 26 и 40 самостоятельных локусов.

Таким образом, NITR представляет собой промежуточную форму между белками неспецифического ответа (например, KIR) и белками специфического иммунного реагирования (антигенраспознающими рецепторами Ig и ТКР) с нереорганизуемыми генами для V-доменов (Strong et al., 1999).

Бесспорный интерес вызывают результаты изучения нового антигенного рецептора NAR у акулы-няньки (Ginglymostoma cirratum). Данный белок гомодимер, каждая Н-цепь которого состоит из одного V-домена, пяти С1-доменов, трансмембранного и хвостового участков; L-цепи отсутствуют (рис. 11.4), подобно одному из подклассов IgG верблюда и ламы.

NAR, имея трансмембранный и хвостовой участки, напоминает по этим свойствам классическую форму иммуноглобулинов. Пространственная организация V-домена этого белка соответствует прототипу доменов IgSF. При этом он достаточно уникален по таким признакам, как исключительно малые размеры второго гипервариабельного региона (CDR2) и недостаточный консерватизм по тем остаткам, которые ответственны за V_H/V_L- и V_α/V_β-взаимодействия при формировании антигенраспознающего участка классических иммуноглобулинов и ТКР. Наиболее существенная характеристика заключается в способности распознавать антиген посредством одного домена, а не двух, как это имеет место у Ig и ТКР. При этом V-домен NAR относится к реорганизуемым доменам (V1) суперсемейства. Аминокислотная и нуклеотидная последовательности определяют промежуточное положение V-домена NAR между ТКР и Ig. Все эти признаки заставляют предполагать, что V-домен вновь открытого рецептора – вероятный, наиболее близкий предшественник V-доменов Ig и ТКР (Roux et al., 1998).

В целом по данным, представленным в этом разделе, общая картина генетической организации и распространенности в природе членов IgSF выглядит следующим образом (табл. 11.5 и рис. 11.5).

Таблица 11.5.

Антигенраспознающие рецепторы и иммуноглобулинподобные белки с гомофильной и гетерофильной формами взаимодействия в различных систематических группах

Молекулярная формула	Обозначение	Таксономическая группа	Взаимодействие с лигандом
V2	Thy-1, P_0	От одноклеточных до млекопитающих	Гомофильное
V2–V2	RTK, SAM	Губки	Гомофильное
V2–V2	DTRK	Насекомые	Гомофильное
V2–V2/C2	NITR	Костистые рыбы	Гомофильное
V1–C1–C1–C1–C1–C1	NAR	Хрящевые рыбы	Гетерофильное
(V1–D–J–C1)n	Ig, ТКР	Хрящевые рыбы	Гетерофильное
V1n–Dn–Jn–C1n	Ig, ТКР	Челюстноротые позвоночные	Гетерофильное

Молекулярная структура Jg-fold (иммуноглобулиновая складчатость) является определяющей характеристикой доменов, из которых построены члены IgSF. Ig-подобный домен обнаружен уже у наиболее примитивных форм жизни, каковыми являются прокариоты. У них они выполняют функцию шаперонов – одного из важнейших факторов в конформационной упаковке белка.

В связи с чем и когда возникла дивергенция на V- и C-домены, не ясно. Вероятно, это событие произошло еще до появления многоклеточных животных, около 2 млрд лет т.н. Присутствие V- и C-гомологов (Thy-1 и β_2-м соответственно) у прокариот и одноклеточных эукариот подтверждает это предположение.

Оказавшись селективно успешными, V- и C-гены широко распространились в мире животных. При этом экспансия Ig-подобных генов сопровождалась параллельными процессами геномного усложнения. Известная сегодня структура генных локусов, контролирующих антигенные рецепторы (ТКР, Ig) и Ig-подобные белки у представителей различных таксономических групп, возникла в результате обычных генетических событий: дупликаций, транслокаций, делеций, мутаций, возникновения D- и J-генных сегментов, контроля процесса рекомбинации со стороны ферментов RAG1/2.

Не во всех случаях возникающие Ig-подобные белки выполняли и выполняют функцию иммунологической защиты. Если одни из них обеспечивают неспецифическую антибактериальную защиту (гемолин насекомых, MDM моллюсков) (Sun et al., 1990; Hoek et al.,1996), то другие проявляют себя в процессах тканегенеза (DTRK насекомых) (Pulido et al., 1992) или участвуют в построении матрикса (пероксидазин насекомых) (Nelson et al., 1994).

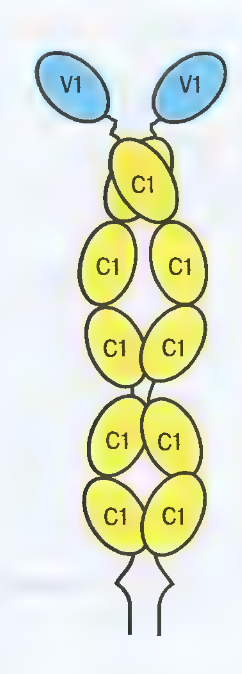


Рис. 11.4. **Доменная организация NAR-белка**

Особое место занимают потомки предковых Ig-подобных генов, ответственных за синтез антигенраспознающих рецепторов (ТКР и Ig). В этом случае три формы организации Ig-генов ясно указывают на определенное давление отбора в исторической ретроспективе при формировании таких рецепторов. Вероятный путь развития состоял из возникновения дуплицированного V-локуса губок, промежуточного V–V/C2-локуса, открытого у костистых рыб, кластерного типа организации Ig-генов акул (все эти локусы представлены множеством копий), NAR-белка акул (прообраза ТКР и Ig) и, наконец, рекомбинационного типа V(D)J построения специфичности с подключением в процесс реорганизации RAG1/2.

Явный эволюционный успех генов для ТКР и Ig ставит вопрос о происхождении собственно иммунологической специфичности.

11.3. Происхождение иммунологической специфичности

Вопрос о происхождении иммунологической специфичности, т.е. способности нейтрализовать «не свое», – один из самых трудных и нерешенных до сих пор.

Попытки представить какие-либо формализованные схемы возникновения иммунологической, антигенраспознающей специфичности строятся в основном на представлениях о переходе гомофильных взаимодействий адгезивных белков к гетерофильным межмолекулярным отношениям по принципу рецептор:лиганд.

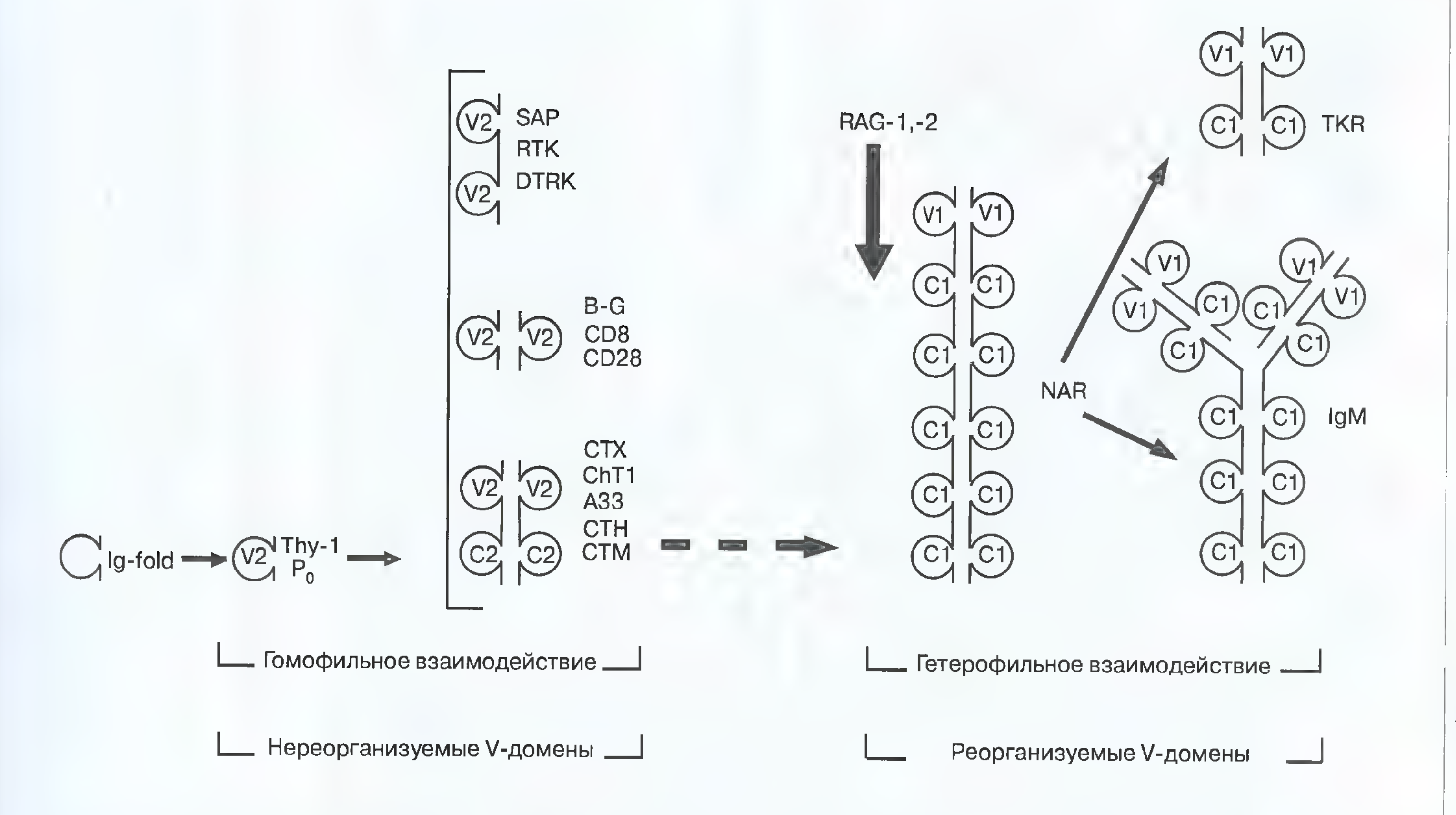


Рис. 11.5. Филогенез иммуноглобулиноподобных молекул
Объяснение см. в тексте.

Перечисление некоторых Ig-подобных белков с двумя формами взаимодействия представлены в табл. 11.5.

Данные о шаперонах прокариот (бактериальных клеток), имеющих строение Ig-fold, наличие адгезивных белков SAP и RTK у губок, DTRK у дрозофилы, построенных из V-подобных доменов, гомодимерного иммуноглобулина NAR хрящевых рыб и, наконец, зрелых ТКР и Ig челюстноротых позвоночных животных позволяют выстроить гипотетическую линию возникновения и развития антигенраспознающих рецепторов позвоночных животных (рис. 11.5).

По самой своей природе шапероны, принимающие участие в формировании третичной структуры белков, действуют в определенных пределах конформационной специфичности. Шапероны Escherichia coli и других грамотрицательных бактерий, имеющие структуру Ig-fold, могут быть реальными претендентами на роль наиболее ранних предшественников той линии развития, которая привела к созданию антигенраспознающих структур, контролируемых реорганизуемыми V-генами. Вероятными, наиболее прямыми потомками шаперонов Ig-fold явились Thy-1 и P_0, построенные из V2-доменов.

Уже у губок, лежащих в основе филогенеза первично- и вторичноротых животных, имеются белки SAM и RTK с двумя V-подобными доменами. Наличие у этих белков полигенных форм (около 40 копий) говорит об их селективном успехе. Кроме того, при ауто- и аллотрансплантации экспрессия этих белков значительно увеличивается, что говорит об их функциональной активности.

Рубежом в череде рассматриваемых белков является гомодимер NAR – новый адгезивный рецептор акул, каждая цепь которого состоит из одного реорганизуемого V-домена и пяти C1-доменов. Данный белок выступает в качестве вероятного, наиболее прямого предшественника антигенраспознающих рецепторов ТКР и Ig челюстноротых позвоночных животных. Об этом говорят следующие факты: структура V-домена NAR занимает промежуточное положение по отношению к V-доменам ТКР и Ig, он контролируется реорганизуемым геном, в состав белка входят C1-домены, никогда не ассоциирующиеся с нереорганизуемыми V2- доменами. Более того, гены для V- и С-доменов объединены в несколько (около 10) известных на сегодня кластеров. Собственно кластерный тип организации представляют собой предковую форму генетического контроля ТКР и Ig более высоко организованных позвоночных животных.

При анализе представленного здесь филогенетического ряда необходимо ответить на некоторые, не вдруг решаемые вопросы. Первый из них: с чем связан переход от гомофильных форм взаимодействия к гетерофильным, что было побуждающим моментом такого перехода и что явилось фактором или факторами отбора, которые привели к созданию столь уникальной системы распознавания в виде клоно- и антигенспецифических ТКР и Ig?

Подобная постановка вопроса требует освещения двух моментов, определивших столь выраженное разнообразие антигенраспознающих рецепторов: роль мутаций и рекомбинаций для V-генов в процессе становления антигенной специфичности.

Первым и наиболее важным событием было эволюционное возникновение доменов Ig-fold, подобного тем, какие известны для шаперонов современных прокариот. Особенностью таких доменов, сыгравших столь значимую роль в эволюции антигенраспознающих рецепторов, являются аминокислотные петли, со-

единяющие β-структурные последовательности. Именно эти петли (будущие гипервариабельные участки ТКР и Ig) подвергались повышенным аминокислотным заменам, поставляя таким образом сырой материал для действия отбора в виде структурно меняющихся V-доменов.

Первоначальная функция таких доменов – участие в межклеточных гомофильных взаимодействиях. Эту роль в эволюционном развитии могли выполнять предшественники однодоменных, а затем и двухдоменных V-подобных белков Thy-1, P_0, SAP, RTK и DTRK. Их появление в эволюции не случайно. Они стояли у истоков возникновения многоклеточных, обеспечивая межклеточную адгезию посредством гомофильного взаимодействия.

При этом первичные многоклеточные животные (впрочем, как и современные), находясь в тех или иных биоценотических условиях, неизбежно подвергались агрессии патогенов внешней среды от вирусов до тех же паразитических многоклеточных. В самом этом явлении нет ничего неожиданного, и современная жизнь различных видов животных дает тому бесчисленное множество примеров. Важно другое. Первичные V-гены, обладая повышенной мутабильностью, обеспечивали синтез варьирующих по специфичности V-доменов, некоторые из которых случайным образом взаимодействовали с лигандами патогенов. Если при таком взаимодействии снижалось патогенетическое действие внешнего агента, повышалась устойчивость особей вида, то ген, контролирующий измененный домен, подвергался сильному давлению отбора и закреплялся в популяции вида. На этом уровне отношений между первичными многоклеточными и патогенами произошло переключение гомофильного взаимодействия на гетерофильное. При этом исходный V-ген оставался для выполнения своей основной функции. Примером тому служат однодоменные белки Thy-1, P_0 и др. Процесс накопления мутационно измененных V-генов, продолженный во времени, приводил в результате ко все большему накоплению таких генов. Выраженная полигения V-генов у современных челюстноротых позвоночных животных тому прямое подтверждение.

Следовательно, при эволюционном развитии многоклеточных произошла смена функций на молекулярном уровне – переход от гомофильного межклеточного взаимодействия к гетерофильному взаимодействию для распознавания чужеродности.

В связи с рассматриваемой проблемой невольно возникает вопрос о неизбежности возникновения таких мутационных изменений, которые приводили бы к синтезу V-доменов с аутоиммунной активностью. Ясно, что подобные мутации без тех селективных внутритимусных процессов, которыми обладают позвоночные животные, приводили бы к гибели носителей таких генов и, следовательно, к невозможности их закрепления в популяциях вида.

Второй момент рассматриваемой проблемы связан с RAG-1 и RAG-2. Процесс накопления меняющихся V-генов через тандемные дупликации и случайные мутации был столь значим для выживания вида, что природа «побеспокоилась» об усилении возможного разнообразия V-доменов. На этом пути эволюционного преобразования в работу вступают RAG-1 и RAG-2, контролирующие процесс рекомбинации V-, D- и J-сегментов как Ig, так и ТКР.

Предполагается, что первоначально RAG в составе ретровируса интродуцировался в геном прѐдковых позвоночных животных в ту часть генома, которая была занята единым V-геном. Подобное событие привело к расщеплению V-гена на

собственно V-ген и D- и J-сегменты. Геномные участки (V, D, J), оказавшись самостоятельными, подвергались обычным генетическим процессам: в первую очередь тандемным дупликациям и случайным мутациям. Результатом таких процессов явилось накопление множества V-генов (у млекопитающих их более 500).

Вторая важная функция RAG состоит в обеспечении синтеза рекомбиназ — ферментов, принимающих участие в процессе реорганизации V-, D- и J-генных сегментов. Случайность объединения данных сегментов при участии RAG определяет множественность синтезируемых V-доменов. Для Н-цепей Ig только за счет рекомбинации образуется около $1{,}2 \cdot 10^5$ вариантов. Ясно, что появление в эволюции механизма рекомбинации V-генов было прогрессивным событием. Однако, как и в случаях с теми событиями, которые обеспечивали вариабельность Ig-подобных структур только за счет мутаций, был необходим биологический механизм, препятствующий возникновению аутореценторов, направленных против антигенов собственного организма. Такой механизм появился в виде отрицательной селекции аутоклонов на территории тимуса и костного мозга. Не случайно процессы рекомбинации эволюционно сопряжены с возникновением функционально активного тимуса, что и наблюдается у хрящевых рыб. Итак, без появления тимуса невозможно было ожидать формирование рекомбинационных процессов для V-доменов.

Неоднократно поднимался вопрос: зачем конкретному индивидууму такой большой запас реорганизуемых V-генов, если в жизни он встречается с ограниченным числом антигенов и большинство V-генов оказываются «бесполезными»? Ответ на этот вопрос лежит в двух плоскостях. Во-первых, мы ничего не знаем, с каким истинным многообразием антигенов входит в контакт конкретный организм в течение жизни. Помимо традиционных бактериальных, вирусных и грибковых антигенов, возможны антигенные нагрузки, связанные с мутационно измененными собственными клетками. Во-вторых, для жизнедеятельности вида, его стабильности не столь важно проявляется или нет тот или иной признак у конкретной особи, но существенно присутствие генов, контролирующих этот признак, если он имеет адаптационное значение в популяции вида. Такие гены через механизм панмиксического скрещивания являются достоянием всей популяции, входят в состав ее генофонда.

Эти общие положения, сформулированные при анализе процесса видообразования, самым тесным образом связаны с пониманием значения «избыточного» пула иммунологической специфичности для жизни вида. Невостребованные антигенраспознающие рецепторы или антитела у какой-либо особи вида в течение ее индивидуальной жизни могут оказаться необходимыми для другой особи данной популяции или для особей других генераций той же популяции. В целом тот уровень специфичностей антигенраспознающих рецепторов и антител, который имеется у высших позвоночных животных, создает необходимый запас прочности для стабильной жизнедеятельности вида.

* * *

Случайные мутации и отбор как определяющие факторы в эволюции антигенраспознающих рецепторов были сопряжены с рядом явлений, к ним относятся:

1. Самостоятельное развитие генов для С-доменов.
2. Их объединения с V-генами в единый локус за счет транслокационных событий.

3. Накопление посредством тандемных дупликаций копий как собственно V-генов, так и V–C-локусов.

4. Формирование кластерного типа наследования ТКР и Ig, появление дополнительных D- и J-генных сегментов.

5. Переход от мономерных Ig-подобных молекул к димерным, что увеличивало эффективность лиганд-рецепторных взаимодействий.

6. Смена кластерного типа наследования на рекомбинационный с включением в процесс рекомбинации генов RAG-1 и RAG-2, значительно увеличивших разнообразие антигенраспознающих рецепторов.

Все эти процессы были крайне важны для формирования молекулярной системы антигенного распознавания, окончательный вариант которой представлен у млекопитающих. При этом следует еще раз подчеркнуть, что ведущими, определяющими событиями в этих процессах были мутационные изменения V-генов, их отбор под давлением антигенно чужеродных соединений, а также формирование рекомбинационного механизма.

Глава 12. ПРИНЦИПЫ МОНОФИЛИИ И СОХРАНЕНИЯ ПРЕДШЕСТВЕННИКА В ЭВОЛЮЦИОННОЙ ИММУНОЛОГИИ

При анализе исторического становлении специфического иммунитета необходимо учитывать общие принципы теории эволюции.

1. Принцип монофилии в эволюционном становлении различных форм адаптивного иммунитета включает положение о том, что все члены суперсемейства иммуноглобулинов, в первую очередь антигенраспознающие рецепторы (sIg и ТКР), произошли от общего однодоменного предшественника в результате тандемных дубликаций гена для однодоменных белков. Тандемно возникшие гены характеризовались самостоятельной эволюционной «жизнью», включающей мутации, хромосомные транслокации, тандемные дупликации и другие генетические процессы.

По отношению к клеткам иммунной системы этот принцип проявлялся в единой линии исторического развития иммунокомпетентных клеток от фагоцитирующего (блуждающего) амебоцита низших многоклеточных до Т- и В-клеток и их субпопуляций у позвоночных животных.

2. Принцип сохранения эволюционного предшественника подразумевает одновременное присутствие у той или иной таксономической группы как исходного родоначального признака, так и его производных, возникших в процессе эволюции. Проявлением данного принципа является состояние адаптационного иммунитета у высших позвоночных животных, которые впитали в себя весь предшествующий исторический опыт развития иммунной системы. В условиях эксперимента обнаружение того или иного признака у какой-то филогенетической группы побуждает исследователей к поиску подобного признака у представителей иных, более совершенных или менее совершенных таксонов.

На рис. 11.5 (см. гл. 11) представлен возможный путь филогенетического развития членов IgSF. Обращают на себя внимание две группы белков: группа одно-

доменных Thy-1, P_0 и группа, включающая либо дуплицированную мономерную форму (SAP, RTK, DTRK), либо одно- и двухдоменные димеры (B-G, CD8, CD28, CTX, ChT1 и др.). Все эти белки относятся к группе древних белков, хотя большинство из них обнаружено пока только у позвоночных животных. Исключение составляют иммуноглобулинподобные белки губок (SAP, RTK) и дрозофилы (DTRK). Признаки, позволяющие говорить об их древности, включают такие показатели, как наличие интронной части в генах для многих из этих белков, отношение вариабельных доменов к V2-группе, т.е. к нереорганизуемой форме этих доменов, гомофильность белкового взаимодействия.

Между этой древней группой и относительно молодой, начинающейся с хрящевых рыб, виден качественный разрыв. Новый уровень развития в IgSF связан, очевидно, с интродукцией в геном челюстноротых позвоночных животных ретровирусных генов RAG-1 и RAG-2. Это событие следует отнести к арогенному явлению, по А.Н. Северцеву, как к процессу, который резко повышает успех в прогрессивной морфофункциональной организации эволюционирующих форм.

Представленный на рис. 11.5 филогенетический ряд демонстрирует монофилетическое происхождение антигенраспознающих рецепторов (ТКР, Ig) от исходной однодоменной структуры Ig-fold.

Явления монофилии и сохранения признаков предков достаточно ясно (в определенных пределах) проявляются при анализе эволюционного происхождения клеток иммунной системы у млекопитающих. Филогенетический ряд в данном случае строится на рецепторной и функциональной общности клеток, участвовавших в эволюционном процессе. Основные этапы становления иммунокомпетентных клеток представлены на рис. 12.1.

1. Как уже отмечалось, в основе формирования клеточного состава внутренней (мезенхимальной) среды организма, к которой относятся и клетки иммунной системы, лежит фагоцитирующая клеточная форма первичных многоклеточных (блуждающий амебоцит губок, кишечнополостных). Показательно, что уже у этой, одной из наиболее древних клеток экспрессируются иммуноглобулинподобные рецепторы (SAP и RTK губок).

2. Макрофагальные и лимфоцитоподобные (возможно, НК) клетки иглокожих имеют рецепторы, гомологичные CD56 (NKH-1) и CD158b (KIR), известные как маркеры НК-клеток млекопитающих. Данные типы клеток обладают цитотоксической активностью по отношению к клеткам человека и мыши. Подобные факты, с одной стороны, указывают на онтогенетическую связь между двумя типами клеток иглокожих, а с другой – на единую филогенетическую линию от амебоцитов губок к НК-клеткам млекопитающих через функциональную и рецепторную общность.

3. Относительно недавно была описана субпопуляция Т-клеток, представляющая собой промежуточную форму между НК-клетками и Т-лимфоцитами. Клетки этой субпопуляции имеют Т-клеточные антигенраспознающие рецепторы и в то же время маркер НК-клеток – CD56.

4. Следующий этап – это формирование Т-клеток, имеющих ТКР γδ-типа. В отличие от $_{\alpha\beta}$ТКР данный тип рецептора не способен к распознаванию классических молекул I и II классов МНС, процесс рекомбинации генов $_{\gamma\delta}$ТКР осуществляется вне тимуса, такой рецептор обладает лишь ограниченной способностью к распознаванию антигена, он часто включен в аутоиммунный процесс. Все эти факты говорят о более древнем происхождении $_{\gamma\delta}$ТКР по сравнению с αβ-типом.

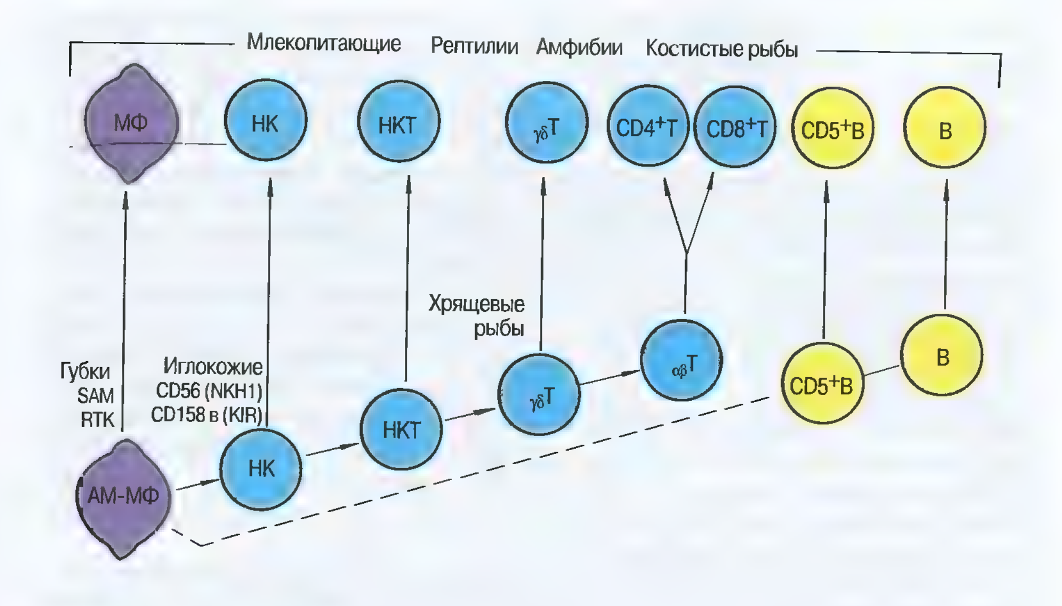


Рис. 12.1. Филогенез клеток иммунной системы

АМ-МФ – амебоцит-макрофаг; НК – натуральные киллеры; НК Т – НК Т-клетки; Т – Т-клетки; В – В-клетки. Объяснение см. в тексте

5. Дальнейшее эволюционное развитие – это возникновение $_{\alpha\beta}$Т-клеток, зависящих от тимуса и обладающих механизмом рекомбинации при образовании ТКР. Начальной стадией эволюционного развития данного типа следует, вероятно, считать хрящевых рыб, которые имеют как $\gamma\delta$-, так и $_{\alpha\beta}$ТКР.

На эволюционном пути от НК-клеток к Т-лимфоцитам сохранилось несколько общих рецепторов, указывающих на филогенетическую связь между этими клетками. Среди них: CD2 – рецептор для молекулы адгезии LFA-3, упоминавшийся CD56 (NCAM), CD94 – рецептор, взаимодействующий с молекулами класса I MHC. Недавно описан рецептор tactil (молекулярная масса 160 кДа), имеющий три внеклеточных Ig-подобных домена, трансмембранную и хвостовую части. Он экспрессируется на Т-клетках и НК. Его выраженность на мембране значительно увеличивается после клеточной активации.

6. Начальные этапы филогенетического развития В-клеток не определены. Очевидным, однако, является то, что CD5$^+$В-клетки предшествовали классическим В-клеткам. CD5$^+$В-клетки характеризуются низкой антигенраспознающей специфичностью, направленной главным образом против углеводных компонентов бактериальных клеток, ранним появлением в онтогенезе, доминирующей продукцией эволюционно наиболее раннего изотипа иммуноглобулинов – IgM.

7. Одним из завершающих этапов в эволюционном развитии клеток иммунной системы является возникновение полноценных В-клеток, клонально организованных и обладающих высокоаффинными антигенраспознающими рецепторами.

* * *

Принцип монофилии по отношению к происхождению антигенраспознающих рецепторов (ТКР, Ig) проявляется в самом факте существования однодоменных белков. Второй рассматриваемый здесь принцип касается сохранения предковых форм в филогенетическом ряду вплоть до млекопитающих. Не во всех случаях он находит свое проявление. С явной очевидностью этот принцип проявляется для однодоменных белков (Thy-1, P_0), а также $_{\gamma\delta}$ТКР и $_{\alpha\beta}$ТКР, которые, возникнув на уровне хрящевых рыб, обнаружены также у всех позвоночных животных, включая млекопитающих. В то же время определенный набор древних, с упрощенной организацией Ig-подобных белков (SAP, RPK губок, DTRK насекомых, B-G, CD8, CD28 млекопитающих) остается пока достоянием только конкретных таксонов и не представлен в иных крупных систематических группах. Этот факт не говорит об их отсутствии у тех или иных таксонов, а лишь о возможной недостаточной изученности проблемы. При такой интерпретации принцип сохранения предшественника несет прогностическое значение и определяет направление поиска.

В отношении клеток иммунной системы выдвинутые проблемы кажутся более ясными. Наиболее четко монофилетический путь развития просматривается в линии от АМ–МФ до $_{\alpha\beta}$Т-клеток. Бесспорно, монофилетическая характеристика касается и В-клеток. Однако не ясно, от какой конкретно клетки-предшественницы пошло развитие этой клеточной формы. Исходя из того, что в онтогенезе Т- и В-клетки имеют общую лимфоидную стволовую клетку, следует думать о подобном предшественнике и в филогенезе.

Все челюстноротые позвоночные животные от хрящевых рыб до млекопитающих имеют полный набор клеток, который регистрируется в филогенезе, подтверждая тем самым выдвинутый принцип сохранения признака нижестоящего таксона у эволюционно более продвинутой таксономической группы.

Глава 13. ИММУНИТЕТ – КОНТРОЛИРУЮЩИЙ ФАКТОР ПРОГРЕССИВНОЙ ЭВОЛЮЦИИ

В естествознании значение каждого учения, каждого воззрения определяется не только тем, что оно объясняет уже известные факты, но также тем, что оно может содействовать открытию новых фактов.

Н.К. Кольцов

Современный уровень иммунологических знаний таков, что позволяет в значительной степени понять не только сам предмет иммунологии в целом, но и подойти к оценке роли специфического иммунитета в эволюционном развитии живых существ.

Собственно основное предназначение иммунологической защиты — борьба с внешними патогенами независимо от уровня организации живых существ — очевидно. Описание механизмов такой защиты в филогенетическом ряду составляет

содержание данной книги. При этом возникает вопрос: была ли необходимость защиты организмов в процессе индивидуального развития единственным предназначением развивающегося иммунитета? Иначе, защищал ли иммунитет только онтогенетическое развитие, а эволюционные преобразования в мире животных шли своими путями, или же иммунитет был включен и в историческое, прогрессивное развитие?

На мой взгляд, *важная задача современной иммунологии состоит именно в разработке второго положения – познания иммунитета как биологического явления, включенного в процесс эволюции.*

В данной главе мы пытаемся рассмотреть иммунитет в качестве контролирующего фактора прогрессивной эволюции по линии увеличения абсолютного количества соматических клеток и на основании такого анализа высказываем собственное мнение о роли исторически развивающегося специфического иммунитета в эволюционном развитии.

13.1. Мутационный риск – плата за многоклеточность

По определению мутационные изменения соматических клеток имеют тот же характер, что и подобные изменения половых клеток.

М.Ф. Бернет (1964), предполагая, что частота мутаций для половых и соматических клеток имеет один и тот же уровень, приводит следующий расчет. Ежедневно у человека в митоз вступают 10^{11}–10^{12} клеток. Какое-либо мутационное изменение должно встречаться с частотой 10^{-6} на репликацию. Из этого следует, что в одной генетической смене клеточного пролиферирующего пула, имеющего место каждый день, должно накапливаться 10^5 мутаций. Если принять, что в одной клетке происходит только одно мутационное событие, то просто вывести, что к зрелому возрасту, приблизительно к 27-ми годам (10 000 дней), в организме человека должно появиться около 10^9 мутантных клеточных клонов. Цифра выведена без учета более интенсивных пролиферативных процессов в эмбриональный и ранний постнатальный периоды. Известно, что большинство мутаций летальны для клетки и в силу этого измененные клеточные клоны не образуются. Однако если условно принять сохранение жизнеспособности только одной из 10^5 или 10^6 мутационно измененных клеток, то и в этом случае уровень нарушений слишком велик, чтобы не приносить ущерба сбалансированной системе целого организма. Особенно следует помнить, что некоторые мутации приводят к интенсивному и неконтролируемому клеточному делению, значительно превышающему скорость нормальных пролиферативных процессов.

При рассмотрении вопроса о механизмах защиты индивидуального генотипа следует обратить внимание еше на один факт. Основное заболевание, причину возникновения которого помимо прочего связывают с мутационными изменениями в соматических клетках – злокачественные новообразования, – имеет статистически достоверное возрастное распределение. Наибольшая встречаемость различных форм рака для человека отмечается после 40 лет. Естественно предположить, что подобное явление не зависит от увеличения с возрастом частоты мутаций. Напротив, так как по мере старения скорость пролиферативных процессов снижается, вероятность подобных ошибок падает. Остается допустить, что

с возрастом снижается эффективность механизмов, элиминирующих мутационно измененные клетки.

Таким образом, высокий мутационный уровень, большая потенциальная возможность накопления мутантных клеток и проявление мутационно обусловленных заболеваний, как правило, в поздний репродукционный период говорят о наличии в организме человека и животных сил, которые ограничивают способность к пролиферации или полностью элиминируют генетически измененные соматические клетки. Ясно, что уровень мутационного риска тем выше, чем больше делящихся соматических клеток составляют определенный организм.

Возникновение и развитие многоклеточных из одноклеточных объясняют тем, что возможности многоклеточного организма по сравнению с одноклеточным предшественником значительно шире в его борьбе за существование. Процесс развития многоклеточных шел как по пути увеличения абсолютного количества клеток тела, так и по пути усиления специализации отдельных групп клеток. Своего совершенства этот процесс достиг у позвоночных животных.

Однако увеличение числа соматических клеток у эволюционирующих форм жизни шло параллельно с увеличением мутационной опасности для клеток тела и, следовательно, всего организма в целом. Мутационный риск есть следствие возникновения и развития многоклеточности. Он выражает собой как бы дань за те преимущества, которые получают многоклеточные формы в их борьбе за существование.

Для иллюстрации высказанного положения обратимся к рис. 13.1. Представим себе гипотетический ряд животных, у которых число возобновляющихся за единицу времени клеток от одного представителя к другому увеличивается на порядок. В начале ряда стоит одноклеточное животное (предположим, обыкновенная амеба), в конце – человек, имеющий 10^{14} соматических клеток, из которых 10^{11}–10^{12} ежедневно возобновляются.

Мутационный риск (МР) для животных, организм которых содержит то или иное количество делящихся клеток, будет выражаться произведением частоты мутаций на число возобновляющихся клеток тела: $МР = 10^{-6} \cdot Z$, где МР – величина мутационного риска, 10^{-6} – частота мутаций и Z – число делящихся клеток. Подчеркнем, что эта величина выводится только для одной смены клеточной генерации. На рис. 13.1 виден возрастающий риск мутационных поражений по мере увеличения количества делящихся клеток. Так, для животных, имеющих незначительное число возобновляющихся клеток (от 1 до 10^5), мутационный риск будет величиной отрицательной. Потребуется несколько полных смен клеточных поколений (20–4), чтобы возникла одна мутационно измененная клетка. У животных, имеющих большее число возобновляющихся клеток (10^6–10^{11}), мутационный риск представляет собой положительную величину. Уже при смене только части делящихся клеток возникнут измененные клетки. Например, для организмов с 10^7 возобновляющихся клеток достаточно воспроизведения всего одной десятой части делящейся клеточной популяции, чтобы возникла одна мутантная клетка.

Возникновение многоклеточных явилось важным арогенным преобразованием в природе. Быть многоклеточным с обилием хорошо дифференцированных клеток – полезно для вида. Разнообразие функций, выполняемых отдельными специализированными клеточными популяциями, взаимная связь между клетками, определяюшая организм как единую биологическую систему, есть результат

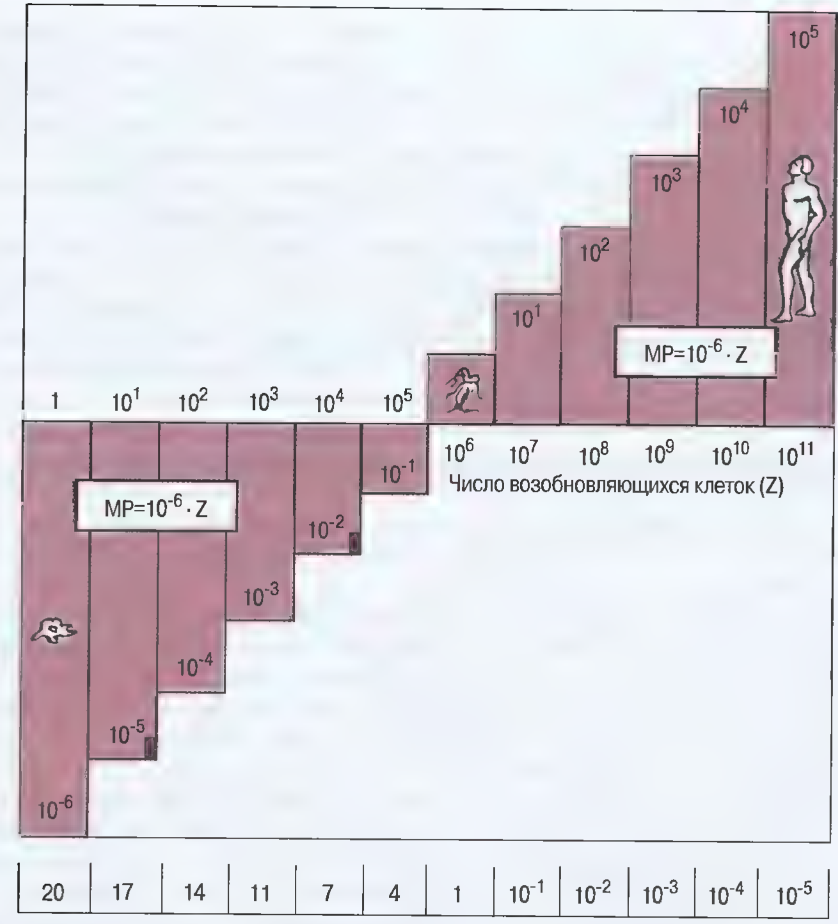


Рис. 13.1. Зависимость величины мутационного риска (МР) от числа возобновляющихся соматических клеток

Z – число возобновляющихся клеток тела за одну генерацию; 10^{-6} – частота спонтанных мутаций соматических клеток. Объяснение см. в тексте

прогрессивной эволюции. Собственно два показателя: увеличение абсолютного числа клеток и их все увеличивающаяся специализация, являются наиболее демонстративными признаками морфофункционального прогресса в мире животных. Однако быть эволюционно развитым организмом с астрономическим числом высоко дифференцированных клеток крайне опасно. Эта опасность кроется в самом факте многоклеточности, в неизбежности сопутствующего мутационного риска. Ясно, что природа должна была выработать механизм, препятствующий накоплению мутантных клеток.

13.2. Становление специфического иммунитета в онтогенезе

Роль специфического контроля в индивидуальном развитии следует из ряда экспериментальных и клинических данных.

1. Использование в эксперименте иммунодепрессантов (антилимфоцитарной сыворотки, химических реагентов, кортикостероидов, моноклональных антител к различным субпопуляциям лимфоцитов) приводит к увеличению частоты возникновения спонтанных и индуцированных опухолей, уменьшает латентный период и ускоряет рост этих опухолей, сокращает продолжительность жизни этих животных. Применение иммунодепрессивной терапии для пациентов, перенесших операцию по пересадке органов, увеличивает вероятность возникновения у них неопластических поражений более чем в 50 раз.

2. У детей с врожденным дефицитом иммунной системы вероятность возникновения опухолей в 10 000 раз выше, чем в контрольный группе иммунологически здоровых детей того же возраста. Причем склонность к неопластическим поражениям выше у тех больных, которые страдают дефицитом по Т-системе или комбинированной недостаточностью по Т- и В-клеткам.

3. Тимэктомия взрослых или новорожденных мышей приводит к увеличению частоты спонтанных опухолей или к большей легкости канцерогенной индукции новообразования. Напротив, введение гормонов тимуса снижает вероятность спонтанного возникновения опухолей.

4. С возрастом, когда иммунная компетентность снижается, увеличивается вероятность опухолевого поражения. Наибольшая частота злокачественных новообразований у человека наблюдается после 40 лет.

5. В опытах на животных и при наблюдениях в клинике установлено, что специфическая и неспецифическая иммунотерапия во многих случаях приводит к регрессии опухолей, препятствует канцерогенной индукции новообразования или блокирует спонтанный онкогенез.

6. Лимфоциты, выделенные от опухоленосителей, обладают специфической цитотоксичностью по отношению к сенсибилизирующим опухолевым клеткам, что неоднократно констатировано в опытах in vitro. Генерация цитотоксических Т-лимфоцитов к раковым антигенам осуществляется через систему взаимодействия иммунокомпетентных клеток при участии антигенов гистосовместимости.

Специфическое иммунное реагирование – не единственная форма контроля генетической целостности организма. Неспецифические компоненты иммунной системы (активированные макрофаги, естественные киллерные клетки, фактор некроза опухолей и др.) также участвуют в основном процессе, хотя и с меньшей эффективностью. Кроме того, открытое и частично разработанное явление аллогенной ингибиции представляет собой другую форму контроля за генетической целостностью соматических клеток. Аллогенная ингибиция (гибридная резистентность) представляет собой явление подавления роста и развития клеток и тканей в генетически чужеродном клеточном окружении при отсутствии активных процессов иммунологической природы. Предполагается, что форма клеточных отношений, действующая по принципу аллогенной ингибиции, имеет место в тех случаях, когда возникающие опухолевые клетки характеризуются упрощением антигенной структурой клеточной поверхности и, как следствие, отсутстви-

ем специфического иммунного реагирования. Насколько эффективна эта форма реагирования, неизвестно. Тот факт, что опухолевые клетки упрощенной антигенной структуры обладают повышенной злокачественностью по признакам интенсивности роста и метастазирования, заставляет думать о недостаточной силе данной формы контроля.

Итак, в создании барьера мутационному клеточному потоку в постнатальный период принимают участие по крайней мере три формы реагирования.

1. Специфический иммунный ответ, связанный в основном с активностью Т-системы.

2. Активность клеточных элементов неспецифического иммунного реагирования: макрофаги и естественные киллерные клетки.

3. Аллогенное подавление генетически измененных клеток.

Оценка иммунологического контроля индивидуального развития была бы неполной, если бы не были представлены данные по состоянию иммунитета у развивающегося зародыша. В самой общей форме становление Т- и В-систем иммунитета у эмбрионов человека представлено на рис. 13.2. Уже на самых ранних этапах развития, когда размер зародыша не превышает 12 мм, происходит закладка тимуса. К 7-й неделе тимус еще свободен от лимфоцитов и представляет собой лишь ретикулоэндотелиальную морфологическую структуру. Большие лимфоциты в органе появляются позднее – через 8 недель внутриутробного развития. У 7-недельного зародыша имеются малые лимфоциты в крови и печени, которые способны к распознаванию антигена, что регистрируется по реакции в MLC. В цитоплазме лимфобластов впервые отмечается синтез IgM. На более поздних этапах развития (8–12 недель) происходит постепенное функциональное совершенствование Т- и В-систем иммунитета.

Столь же раннее проявление иммунной реактивности установлено для зародышей овец. Уже на 41-й день внутриутробного развития (при общей продолжительности беременности 150 дней) плод отвечает на бактериофаг φX-174. В дальнейшем способность к гуморальному иммунному ответу усиливается и характеризуется определенной этапностью в синтезе антител к антигенам все меньшей иммуногенности: на 56-й день плод отвечает на ферритин, через 80 дней – на гемоцианин, через 120 дней – на овальбумин. Параллельно идет формирование Т-системы. Первые лимфоциты в зачатке тимуса появляются на 41–43-й день, в лимфатических узлах – на 45-й день, в селезенке – после 58-го дня и в лимфоидной ткани кишечника – после 75-го дня развития. У 75-дневного зародыша отмечается способность к формированию хорошо выраженной, комплексной, клеточной реакции на аллогенный трансплантат.

О раннем становлении специфических форм реагирования говорят также наблюдения за развитием Т-системы у представителей других классов позвоночных животных. Так, у лососевых лимфоциты в зачатке тимуса появляются за 22 дня. У карпа (Cyprinus carpio) с интенсивным зародышевым развитием (всего в несколько дней) уже через 3 дня после оплодотворения в зачатке тимуса обнаруживаются лимфоциты. У стальноголового лосося (Salmo gairdnery) В-клетки, метящиеся моноклональными антителами к IgM, появляются в пронефросе на 4–5-й день после выклевывания.

Достаточно хорошо изучен вопрос об онтогенетическом развитии иммунной реактивности у амфибий. У шпорцевой лягушки (X. laevis) вскоре после выхода из

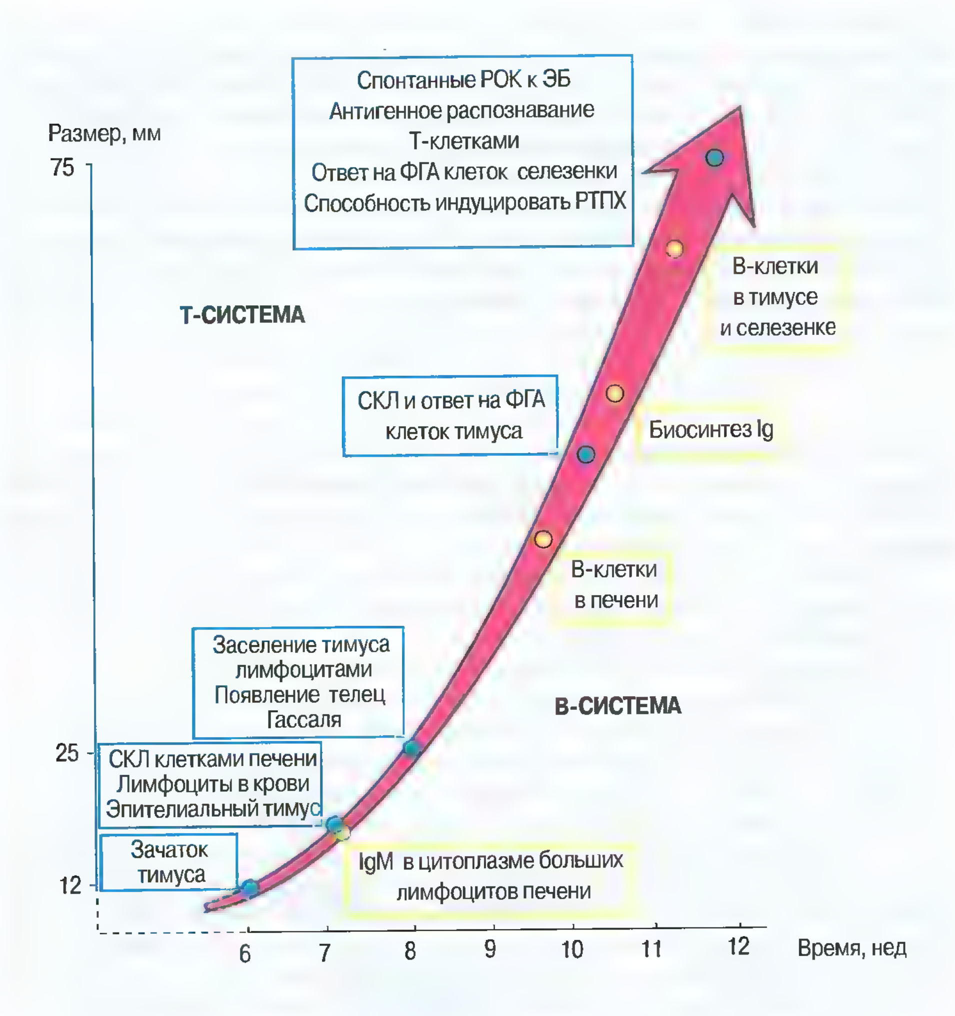


Рис. 13.2. **Этапы становления Т- и В-систем иммунитета у зародышей человека**

На самых ранних этапах развития (6 нед), когда размер плода не превышает 12 мм, происходит закладка тимуса. Большие лимфоциты в органе появляются через 8 нед внутриутробного развития. У 7-недельного эмбриона в печени имеются лимфоциты, способные к распознаванию аллоантигенов (реакция в СКЛ). В это же время в цитоплазме лимфобластов обнаруживается IgM. В дальнейшем идет постепенное совершенствование Т- и В-систем иммунитета

яйца (45-я стадия личиночного развития) появляются незрелые В-клетки в печени, а несколько позднее (49-я стадия) обнаруживается сывороточный IgM. Первые, мигрирующие в зачаток тимуса стволовые элементы регистрируются через 3 дня после оплодотворения (44-я стадия); через 13 дней наблюдается умеренная способность к аллотрансплантационному отторжению, через 25 дней лимфоциты способны развивать реакцию MLC.

В онтогенезе кур первые лимфоциты в зачатке тимуса появляются на 11-й день эмбрионального развития. Это – крупные клетки с диаметром около 11 мкм. Между 11-м и 13-м днями преимущественный размер тимоцитов составляет 8 мкм, к 16-му дню – 5,5 мкм. Смена гистологической картины связана, очевидно, с процессами внутритимусной дифференцировки и поэтапного перехода клеток от незрелых предшественников к более зрелым формам.

Анализ только этих данных позволяет понять главное: уже на первых этапах эмбрионального развития формируются реакции специфического иммунного ответа, что указывает на раннее проявление механизмов контроля за генетическим постоянством соматических клеток организма.

13.3. Роль иммунитета в эволюции

Оценка роли развивающегося специфического иммунитета в эволюции животных требует ответа на ряд не вдруг решаемых вопросов:

1. Что явилось доминирующим фактором отбора при эволюции иммунной системы?

2. Когда и за счет каких механизмов возникла способность к специфическому иммунному распознаванию чужеродного антигенного материала посредством антигенраспознающих рецепторов?

3. Какова природа клеток, принимающих участие в распознавании чужеродности, в частности, аллогенного или ксеногенного трансплантата?

4. Какова природа иммунологической памяти у низших многоклеточных (губок, кишечнополостных) или более эволюционно продвинутых беспозвоночных?

Все эти вопросы служат предметом обсуждения.

Кажется очевидным, что основным фактором отбора для совершенствования иммунной защиты явилась внешняя агрессия в виде различного рода патогенов (вирусов, бактерий, грибов и т.д.). Именно этот факт был определяющим в начальном становлении неспецифического иммунитета, а затем и специфических форм защиты. Наличие у беспозвоночных в целом как подцарства мира животных около 400 антибактериальных факторов, медиаторов воспаления, эндогенных цитокинподобных регуляторов, развитие клеточной реакции на чужеродность говорят о способности этой группы животных к активной защите.

При наличии высокоэффективной системы неспецифической иммунологической защиты параллельно зарождался и развивался специфический иммунитет, возможности которого по тонкому распознаванию чужеродности несравнимо шире по сравнению с неспецифическими формами защиты. Создание иммунологической памяти от первичного контакта с антигеном говорит о высокой функциональной эффективности специфического иммунитета. Закономерно возникает вопрос: зачем природа создавала столь ювелирную, многофакториальную, сложную систему, только ли для борьбы с внешними патогенными агентами? Думается, что у такой системы было и другое предназначение, и заключалось оно в обеспечении собственно эволюции многоклеточных по линии увеличения абсолютного количества соматических клеток.

Исходя из тех представлений, что величина мутационного риска прямо пропорциональна числу делящихся клеток (см. рис. 13.1), следует допустить, что па-

раллельно процессу развития многоклеточности шло формирование механизмов, сдерживающих этот поток. В данном случае необходимо обратить внимание не на внешние биоценотические факторы, а на внутренние, свойственные самому многоклеточному организму. Без успешного формирования этих механизмов эволюция «застряла» бы на том уровне, при котором количество соматических клеток у животных было бы мало, а период воспроизведения короток.

Суммируя представленный в книге материал, можно попытаться привести в соответствие факты по эволюционному возникновению различных способов иммунного реагирования с уровнем организации в мире животных (рис. 13.3). Всего включено шесть проявлений иммунитета: фагоцитоз, неспецифический клеточный и гуморальный иммунитет, аллогенная ингибиция, специфическая клеточная форма защиты, участие антигенраспознающих рецепторов, продукция иммуноглобулинов.

Способность одноклеточных организмов к фагоцитозу является тем свойством, которое обеспечивает их питание. Фагоцитоз как реакция амебоцитов–макрофагов сохранился у всех многоклеточных животных.

Неспецифическим клеточным и гуморальным иммунитетом характеризуются все многоклеточные (см. гл. 1 и 6). Суммарным проявлением неспецифической формы защиты является реакция воспаления.

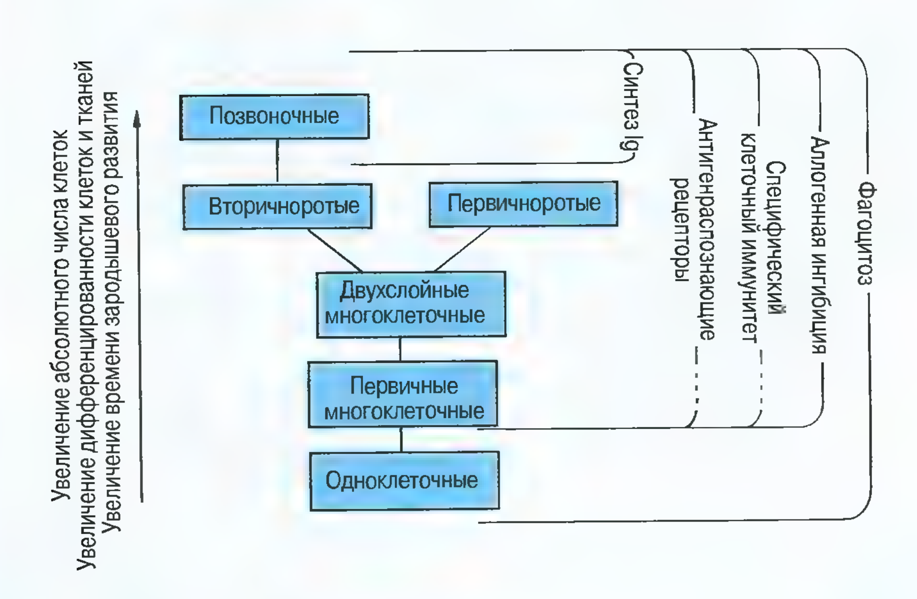


Рис. 13.3. Соотношение между различными формами иммунитета и уровнем организации в мире животных

Объяснение см. в тексте

Данные по неиммунному распознаванию чужеродности в реакциях алло- и ксенотрансплантации у наиболее просто организованных многоклеточных – губок и кишечнополостных (см. гл. 8), а также демонстрация явления аллогенного подавления у млекопитающих позволяют думать, что подобная форма реактивности есть общее свойство всех многоклеточных.

Факты о зарождении клеточных форм специфического реагирования (в реакции отторжения трансплантата и формирования кратковременной иммунологической памяти у губок, кишечнополостных) и усиление специфического клеточного иммунитета, обусловленного лимфоцитами или лимфоцитоподобными клетками, у первично- и вторичноротых животных (кольчатые черви, иглокожие и др.) определяют пределы, в которых данная форма защиты имеет место (см. гл. 8). Если верхний предел специфического клеточного реагирования ясен – это уровень млекопитающих, то нижний (губки, кишечнополостные) выглядит достаточно расплывчато. Лишь некоторые представители этих таксонов способны к специфическому реагированию с формированием кратковременной иммунологической памяти. Подобные проявления следует отнести к явлению предадаптации элементов клеточной формы реагирования. На рис 13.3 квазииммунное реагирование отмечено пунктирной линией.

Специфичность клеточной иммунной реакции подразумевает наличие на поверхности эффекторных клеток молекулярных структур, способных к распознаванию чужеродного, антигенного материала. Несмотря на то что наличие антигенраспознающих рецепторов у беспозвоночных выявлено только у иглокожих и оболочников, следует предполагать их наличие также у более низкоорганизованных беспозвоночных, способных к рассматриваемой форме реагирования. В этом отношении показательны факты обнаружения иммуноглобулинподобных структур RTK и SAM у губок. Как отмечалось выше (см. гл. 11), данные поверхностные белки имеют два внеклеточных домена, гомологичных по нуклеотидной и аминокислотной последовательности V-доменам человека. Их экспрессия повышается при алло- и аутотрансплантации. Несут ли они истинную антигенраспознающую функцию, не ясно. Во всяком случае эти белки находятся в единой филогенетической линии с TCR и Ig позвоночных животных (см. рис. 11.5).

И, наконец, показано, что синтез иммуноглобулинов – молекулярных эффекторов специфического, гуморального реагирования – есть привилегия челюстноротых позвоночных животных.

Анализ представленной на рис. 13.4 схемы указывает на необходимость биологического контроля за процессом эволюции многоклеточных по линии увеличения абсолютного числа соматических воспроизводящихся клеток. Одним из таких контролирующих механизмов явился исторически развивающийся специфический иммунитет.

Конечно, тезис о том, что прогресс по линии увеличения количества соматических клеток обеспечивался в том числе и системой иммунологического контроля за мутационным потоком, был бы более убедительным, если бы удалось провести строгую корреляционную связь между эволюционно возникающими формами иммунитета и все увеличивающимися размерами носителей этого иммунитета, как это сделано для развивающегося зародыша человека (см. рис. 13.2). Однако отсутствие сведений об истинном числе воспроизводящихся клеток у представителей разных таксонов, недостаток знаний о состоянии иммун-

ной реактивности у наиболее просто организованных животных не позволяют установить абсолютную связь. И тем не менее можно попытаться провести подобную оценку в гипотетической форме, опираясь на возможные в прошлом пути раннего развития многоклеточности. На рис. 13.4 в условном графическом виде представлены варианты эволюционных изменений числа возобновляющихся клеток у представителей тех или иных животных. Относительная клеточная величина отображена размером круга (чем больше число возобновляющихся клеток, тем больше диаметр круга, и наоборот). Условное нарастание многоклеточности обозначено цифрами от 1 до 8. Следует еще раз подчеркнуть, что данная

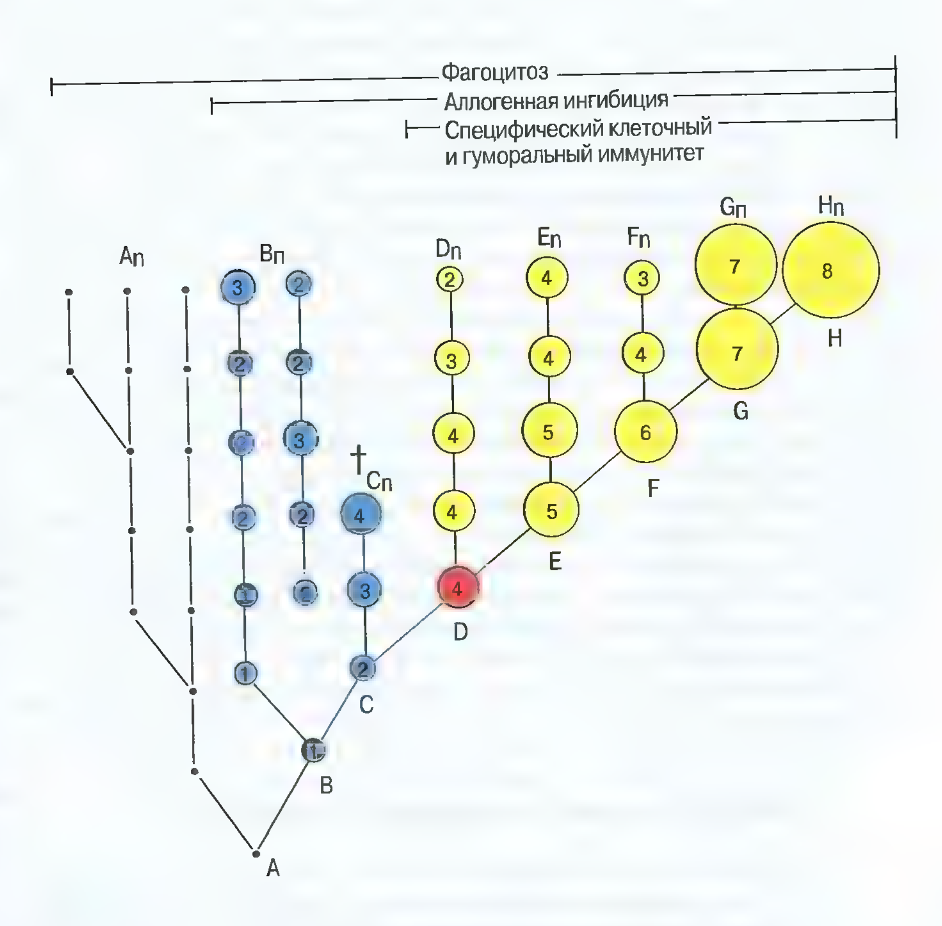


Рис. 13.4. Схема включения иммунных механизмов контроля за эволюцией многоклеточности

Точка – одноклеточные; кружки 1–8 – условное обозначение количества воспроизводящихся соматических клеток у эволюционирующих многоклеточных животных; B–Bn, C–Cn, D–Dn и т.д. – направления условного филогенетического развития; C4 – тупиковый путь развития; D4 – многоклеточный организм, с которого начинается филогенетическое развитие специфического иммунитета

схема полностью умозрительна и указывает лишь на возможные тенденции в эволюционном развитии многоклеточности.

В глубоком геологическом прошлом (очевидно, в архее) эволюция по линии увеличения числа соматических клеток, вероятно, завершилась бы на стадии C4 и не имела бы успеха в дальнейшем увеличении клеточности по причине отсутствия специфического контроля за мутационным потоком. В то же время при том же уровне многоклеточности форма D4, обладающая определенным видом специфического иммунологического контроля, «обречена» на эволюционный успех. Дальнейшее историческое развитие могло привести как к увеличению абсолютного количества пролиферирующих клеток (линии D–H), так и к различного рода колебаниям по многоклеточности (D–Dn, E–En и т.д.). В результате на уровне современных форм (Dn–Hn) диапазон колебаний многоклеточности велик, а представители с незначительным количеством клеток, но прошедшие предковый путь становления иммунитета соседствуют с формами, имеющими большее число соматических клеток, но не имеющими специфического иммунитета. Так, наиболее мелкие представители таких высокоорганизованных классов, как птицы или млекопитающие, обладающие полностью сформированными механизмами специфической иммунологической защиты, уступают по размерам некоторым видам кишечнополостных, либо не имеющим такой защиты, либо обладающим ей в зачаточной форме.

Каково количество соматических клеток, начиная с которого оно не могло бы увеличиваться без параллельного становления специфических форм иммунологической защиты? Исходя из принципа биогенетического закона Геккеля, следует думать, что такое количество должно быть незначительным. Действительно, уже на самых ранних этапах зародышевого развития позвоночных животных регистрируются признаки Т- и В-систем иммунитета (см. раздел 13.2).

На основании всего сказанного выше следует заключить, что на эволюцию иммунитета не следует смотреть только как на самостоятельную линию исторического развития, связанную с антиинфекционной активностью, но скорее как на такой эволюционный процесс, который самым тесным образом связан с эволюцией многоклеточных вообще. В связи с подобными представлениями кажется разумным утверждение о том, что *развивающийся исторически иммунитет явился одним из важных факторов прогрессивной морфофункциональной эволюции в мире животных.*

Дискуссионность выдвинутой гипотезы

Выяснение механизмов, препятствующих мутационному потоку в процессе индивидуального развития, и разработка вопроса о значении таких механизмов в прогрессивной эволюции – это в действительности познание еще одного фактора стабильности и в то же время фактора отбора в биологии. Стабильность генома в ряду поколений обеспечивается механизмами наследственности. Имеющиеся мутационные нарушения генетического аппарата половых клеток незначительны, хотя и необходимы для преобразований вида.

Стабильность индивидуального развития – залог осуществления наследственной преемственности. Иначе, стабильность в процессе онтогенеза требуется для

доставки наследственного материала от особей одного поколения особям другого. Генетическая стабильность соматических клеток в процессе онтогенеза контролируется механизмами специфического иммунитета. Это утверждение справедливо для любых клеточных форм жизни независимо от степени их организации. Без формирования и эволюционного развития механизмов иммунологического контроля за соматическим мутагенезом жизнь достаточно организованных многоклеточных была бы невозможна. В связи со сказанным кажется очевидным, что *эволюция многоклеточных не могла бы пройти в том виде, в котором мы ее знаем, если бы параллельно не шел процесс эволюционного совершенствования иммунных механизмов, контролирующих мутационный клеточный поток.*

В свое время после выхода в свет моей книги[1], в которой высказывались соображения о значении иммунных механизмов в эволюции, на страницах журнала «Онтогенез» была развернута дискуссия. Ее организатором был главный редактор журнала С.Г. Васецкий. Думается, что основные положения дискуссии следует представить в этом разделе.

В обсуждении приняли участие наши ведущие иммунологи и эволюционисты: Г.И Абелев, А.А. Ярилин, Л.Н. Фонталин, А.С. Северцев[2]. Мои оппоненты не только высоко оценили работу в целом, но и высказали, что особенно важно и продуктивно, свои соображения о возможных путях и биологическом значении эволюции иммунитета.

Попытаюсь последовательно, ничего не опуская и не затушевывая, высказать свое отношение к поднятым вопросам.

1. *Возникновение и эволюция специфического иммунного распознавания посредством антигенраспознающих молекул (Т-клеточных рецепторов, иммуноглобулинов).* А.А. Ярилин, отдавая должное данным о распространенности предковых гомологов антигенраспознающих структур – Thy-1 и P_0, отмечает, что «...обнаруживать эволюционные истоки V-генов надо на пути поиска не гомологов вариабельных доменов антигенраспознающих рецепторов, а предшественников и гомологов ключевых ферментов, определяющих вышеуказанный процесс (ферментов, участвующих в онтогенетической рекомбинации продуктов V-генов. – *В.Г.*), прежде всего рекомбиназ и их генов RAG-1 и RAG-2». Здесь требуется серьезное возражение. Рекомбиназы должны иметь субстрат своего реагирования, и таким субстратом являются эволюционирующие V-домены. Активность RAG-1 и RAG-2 проявляется только на уровне челюстноротых позвоночных животных, и никакого отношения к зарождению специфического иммунитета они не имеют.

---

[1] *Галактионов В.Г.* Очерки эволюционной иммунологии. М.: Наука, 1995. 256 с.

[2] *Абелев Г.И.* Рецензия на книгу В.Г. Галактионова «Очерки эволюционной иммунологии». Загадка происхождения специфического иммунитета. Полемические заметки // Онтогенез. 1997. Т. 28, № 1. С. 68–69.

Фонталин Л.Н. Происхождение специфического иммунитета позвоночных животных: факты и гипотезы // Там же. № 4. С. 314–315.

Ярилин А.А. Об эволюции распознающих и распознаваемых структур // Там же. № 6. С. 473–475.

Северцев А.С. Эволюционная иммунология с точки зрения эволюциониста // Там же. № 5. С. 398–399.

2. *Эволюция клеток иммунной системы.* Л.Н. Фонталин в своем отзыве пишет: «Проблематичен также вопрос: вправе ли мы считать лимфоцитами сходные с ними клетки у кольчатых червей или у иглокожих, особенно учитывая филогенетическую отдаленность кольчатых червей от позвоночных? Можно надеяться, что по мере расширения и углубления сравнительно-иммунологических исследований указанные неясности будут устранены». Более того, автор рецензии предполагает, что лимфоцитоподобными клетками беспозвоночных могут быть натуральные киллеры (НК), не являющиеся участниками специфического иммунитета. Кажущаяся проблематичность решается просто. И у кольчатых червей, и у иглокожих продемонстрирована способность к специфическому отторжению аллотрансплантата и, что крайне важно, к созданию иммунологической памяти от первичного контакта с чужеродностью. Как хорошо известно, НК как участники неспецифического реагирования не способны к подобной активности. Способность сохранять память есть привилегия лимфоцитов. Именно поэтому сомнения, высказанные оппонентом, не оправданны. Дополнительно, давно и хорошо установлено, что головоногие моллюски, ракообразные, иглокожие имеют типичные лимфоидные органы, гистологически неотличимые от позвоночных животных. Зачаточные лимфоидные скопления в виде парных узелков описаны у кольчатых червей. Анализ данных по клеточному составу в очаге специфического отторжения трансплантата у представителей разных систематических групп, обнаружение Т-клеточных рецепторов у иглокожих и оболочников, функциональное сходство клеток рассматриваемых групп животных (участие в адоптивном переносе специфического иммунитета, реакция на Т-клеточные митогены, продукция ростовых факторов), морфологическое сходство позволили мне провести прямую филогенетическую связь от амебоцита (макрофага) губок и кишечнополостных через НК и лимфоцит (или лимфоцитоподобную клетку) кольчатых червей, моллюсков, иглокожих, оболочников к Т- и В-лимфоцитам позвоночных животных (см. рис. 12.1).

Нам, действительно, мало что известно о филогенезе клеток, осуществляющих специфическое распознавание. Однако имеются биологические принципы, придерживаясь которых, можно правильно спланировать направление поиска. На мой взгляд, вот некоторые из них:

– принцип монофилетического эволюционного развития как на уровне различных таксономических групп, так и на клеточном и молекулярном уровнях;

– принцип преадаптации функций (в отношении антигенраспознающих Ig-подобных структур он касается смены гомофильных форм взаимодействия на гетерофильные);

– принцип параллельного развития А.А. Заварзина, по которому идентичные функции филогенетически далеко отстоящих групп определяет эволюционное становление идентичных морфологических структур, осуществляющих эти функции (именно этот принцип прямо приложим к анализу эволюции клеток иммунной системы).

3. *Мутации в соматических клетках как возможная причина эволюционного развития специфического иммунитета, а сам развивающийся иммунитет как фактор прогрессивной эволюции.* Проблема роли исторически развивающегося иммунитета в прогрессивной эволюции животных по линии увеличения абсолютного количества клеток вызвала наибольшую дискуссию.

А.С. Северцев обращает внимание на то, что помимо мутационной опасности, уровень которой прямо пропорционален числу делящихся клеток, необходимо было бы ввести еще два показателя – продолжительность жизни животных, от которой также зависит число накапливающихся мутационно измененных клеток, и интегрированность организма, поскольку чем глубже дифференцированы его ткани, тем опаснее возникновение мутантных клонов клеток. Трудно не согласиться с подобной точкой зрения. Понимая, что эти два показателя, так же как и общее число воспроизводящихся клеток, явились побудительными факторами филогенетического совершенствования специфического иммунитета, я тем не менее не сформулировал их. На рис. 13.3 эти дополнительные показатели упоминаются.

Следующая группа вопросов, представленных А.С. Северцевым и А.Н. Фонталиным, касается относительной роли мутационного процесса как фактора становления специфического иммунитета. Так, А.С. Северцев, отдавая должное основному содержанию гипотезы об антимутационном значении развивающегося иммунитета, упрекает меня в том, что осталась нерассмотренной роль инфекции и биоценотического окружения в становлении специфической защиты. Замечание оппонента – прекрасный повод высказаться еще раз на эту тему. Понятно, что без выяснения причин возникновения специфического иммунного распознавания, исторического становления специфических форм защиты невозможно подойти к созданию более или менее объективной концепции иммунитета. Ключевой вопрос иммунологии: зачем возникла столь сложно организованная система специфической иммунной защиты остается открытым. Действительно, неспецифические формы защиты беспозвоночных и позвоночных животных удивительно разнообразны и в силу своей эффективности, очевидно, достаточны для борьбы с любыми патогенами. Остается искать иные объяснения, иные побудительные мотивы, приведшие к зарождению и историческому развитию специфических форм защиты. Я использовал принцип иммунологического надзора Бернета[1], разработанного им для анализа сохранения генетической целостности клеток в течение онтогенеза, и распространил его на эволюцию многоклеточности в качестве одного из механизмов, обеспечивших морфофункциональный прогресс. В основе моего построения лежат представления о естественном, спонтанном (неиндуцированном канцерогенами или радиацией) мутационном процессе. Именно эта основа всего построения вызывает у Л.Н. Фонталина наибольшее возражение. Он считает, что мутации в соматических клетках не играли существенной роли, так как возникающие в результате неоплазмы, во-первых, редки, а во-вторых, обладают слабой иммуногенностью. Аргументы о слабости иммунного ответа к спонтанным опухолям не кажутся убедительными. Мы не знаем наверное, а лишь предполагаем роль селекционных процессов (в качестве сита может выступать иммунитет). Селекция мутантов происходит прежде, чем опухоль вырвется из-под иммунологического контроля и проявит себя как клинический факт. При этом достаточно всего одной клетки из 10–100 млн мутантов, преодолевшей контроль, чтобы обеспечить клональный неопластический рост. Конечно, помимо иммунологического кон-

---

[1] *Бернет М.Ф.* Целостность организма и иммунитет. М.: Мир. 1964.

троля действовали в филогенезе и действуют в онтогенезе и иные факторы контроля (например, репарация ДНК, апоптоз, вероятно, и др.).

И, наконец, последний существенный вопрос, выдвинутый Л.Н. Фонталиным. Оппонент пишет: «Необъяснимо с точки зрения рассматриваемой концепции наличие множества видов крупных беспозвоночных животных, чья клеточная масса на много порядков превышает указанный В.Г. Галактионовым критический уровень». В данном издании я отказался от ориентации на какое-либо конкретное лимитирующее число, удовлетворившись неопределенным «мало». Тем не менее, сомнения Л.Н. Фонталина требуют пояснения. Вот мои соображения. Во-первых, виды, в первую очередь низшие беспозвоночные, со слабой интегрированностью тканей (кишечнополостные, плоские черви, др.), с короткой продолжительностью жизни не нуждаются в строгой специфической защите. Возможно, иные неиммунные механизмы, такие, например, как репарация ДНК, апоптоз, являются достаточными для поддержания генетической целостности соматических клеток в течение короткого периода индивидуального развития. Во-вторых, наличие крупных беспозвоночных относительно общего числа видов этой группы животных очень невелико. Например, наиболее крупные из беспозвоночных – сцифоидные – насчитывают всего 200 видов. Причем их размеры во многом зависят от бесклеточной мезоглеи. В то же время кораллы представлены 6100 видами. Каждая особь содержит очень незначительное число клеток. Лучшим примером корреляции между крайне высоким количеством видов и незначительными размерами тела являются насекомые, включающие более 2 млн видов. В-третьих, мы ничего не знаем о том, какие исходные формы губок или кишечнополостных дали восхождение к первично- и вторичноротым с более сильной дифференцированностью клеток и тканей. В этом процессе существенную роль мог играть зарождающийся специфический иммунитет. Вполне вероятно, что формы с начальными проявлениями специфического иммунитета стали исходными для дальнейшей прогрессивной эволюции.

В целом иммунологический аспект в теории дарвиновской эволюции со временем должен занять достойное место.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Определяющая форма защиты от инфекционных агентов у беспозвоночных — неспецифическая, обеспеченная в основном активностью амебоцитов-макрофагов, набором антимикробных гуморальных факторов, а также Toll- и Imd-рецепторов, гомологи которых известны и у млекопитающих. Однако даже у низших многоклеточных, каковыми являются губки и кишечнополостные, наблюдается определенная форма преадаптации к специфическому иммунному реагированию на чужеродный материал. Аллотрансплантационное отторжение с формированием кратковременной иммунологической памяти у этих животных является показателем такой преадаптации. Главной эффекторной клеткой в реакциях отторжения, как и в антиинфекционном иммунитете, является блуждающий амебоцит. Именно этот клеточный тип филогенетически становится обладателем предковых V-доменов, о чем свидетельствует наличие SAP и RTK двухдоменных рецепторов у губок.

К стратегическим успехам эволюционного развития иммунной системы следует отнести возникновение как в линии первичноротых, так и вторичноротых беспозвоночных специализированной иммунокомпетентной клетки — лимфоцита или лимфоцитоподобной клетки. Именно с лимфоцитом беспозвоночных связывается окончательно судьба антигенраспознающих рецепторов. Данный клеточный тип становится основным эффектором специфического иммунитета. Возникновение лимфоцита или лимфоцитоподобной клетки как основного клеточного инструмента иммунного реагирования следует отнести к категории ароморфного преобразования по А.С. Северцеву, так как это событие определило дальнейшее развитие целой системы организма.

Обращает на себя внимание факт гомологии развития лимфоцитов в сравниваемых линиях первично- и вторичноротых. Между антигенраспознающими клетками двух этих филогенетически очень далеко отстоящих линий имеется не только функциональная связь (распознавание антигена в реакциях трансплантационного антигена и цитолиз чужеродной ткани, способность к адоптивному переносу, ответ на Т-клеточные митогены), но и морфологическая, что само по себе иллюстрирует теорию А.А. Заварзина о параллелизме морфологического развития функционально идентичных клеток и тканей.

Вторым важным эволюционным новшеством в развитии иммунитета является возникновение тимуса у круглоротых. Именно с появлением этого органа лимфоидная (иммунная) система приобретает самостоятельную роль в жизнедеятельности организмов. По важности это событие следует отнести к еще одному ароморфозу в развитии системы.

С появлением тимуса и костномозговой ткани у круглоротых создались условия для дивергенции пула лимфоидных клеток на две самостоятельные Т- и В-популяции. Соответственно эти две популяции становятся обладателями двух самостоятельных антигенраспознающих рецепторов — ТКР для Т-клеток и sIg для В-клеток.

Определяющее значение при изучении эволюции специфического иммунитета имеет анализ исторического развития суперсемейства иммуноглобулинов (IgSF). В состав IgSF входят белки, построенные из гомологичных по аминокислотной последовательности доменов, которые имеют структурно сходную конфигурацию, названную иммуноглобулиновой складчатостью (Ig-fold). Все белки

IgSF делят на две группы: группу с нереорганизуемыми V2-доменами и гомофильной формой межбелкового взаимодействия и группу с реорганизуемыми V1-доменами и гетерофильным взаимодействием. К белкам первой группы относятся адгезивные и рецепторные молекулы, а также белки с не установленной пока функцией. Вторую группу составляют рецепторные иммуноглобулины (sIg) В-клеток, свободные изотипы Ig, ТКР, молекулы I и II классов МНС. Контроль структуры V2-доменов первой группы осуществляется единым VJ-геном. Разнообразие доменов этой группы зависит от полигении соответствующих генов. Предки челюстноротых животных становятся обладателями реорганизуемых V1-генов. Структура гена характеризуется разрывом между собственно V-геном и D- и J-сегментами. Подобная организация генетического материала значительно увеличила разнообразие антигенраспознающих рецепторов. Предполагается, что рекомбинационный тип организации генетического материала связан с интродукцией в геном предковых челюстноротых RAG1- и RAG2-генов ретровируса, которые обеспечили два процесса. Во-первых, они «разорвали» некогда единый VJ-ген на V- и J-сегменты и, во-вторых, стали обеспечивать случайную рекомбинацию между ними в процессе созревания Т- и В-клеток.

Одно из существенных свойств развивающейся иммунной системы состоит в том, что в процессе эволюции этой системы появляющийся вновь иммунологический признак, как правило, не исключал предкового, от которого он произошел. Например, амебоциты (макрофаги) низших беспозвоночных, дав начало лимфоцитам, сохранились для иммунной системы, взяв на себя функцию подготовки антигена в иммуногенную форму и продукции иммунорегуляторных цитокинов. Thy-1-антиген как предшественник V-доменов всего IgSF сохранил свою молекулярную самостоятельность вплоть до млекопитающих. NAR-белок, обнаруженный у хрящевых рыб, имеет гомологов у верблюдов и лам. Ряд цитокинов млекопитающих известен и для беспозвоночных. Гомологи Toll-рецепторов описаны и у млекопитающих. Таким образом, иммунологическая система млекопитающих впитала в себя предыдущий опыт развития иммунных форм защиты – от одноклеточных и низших многоклеточных до высших позвоночных животных.

Сопоставление уровней организации в мире животных от одноклеточных до высших многоклеточных животных, включая позвоночных, с проявлением различных форм иммунного реагирования позволяет предполагать, что эволюция многоклеточных не прошла бы в той форме, которая известна, если бы параллельно не осуществлялось историческое развитие специфического иммунитета. Без постепенного совершенствования иммунитета эволюция многоклеточности оставалась бы на уровне организмов с незначительным количеством возобновляющихся соматических клеток. При подобной трактовке исторического развития в мире животных на эволюцию специфического иммунитета не следует смотреть только как на самостоятельную линию филогенетического развития, но скорее как на такой процесс, который самым тесным образом связан с эволюцией многоклеточности вообще.

ПРИЛОЖЕНИЕ

Характеристика CD-антигенов

CD-антигеи	Клеточная экспрессия	Молекулярная масса, кДа	Функции	Другое название	Семейство
CD1 a, b, c, d	Кортикальные тимоциты, клетки Лангерганса, дендритные клетки, В-клетки (CD1c), эпителий кишечника (CD1d)	43—49	Молекула, подобная I классу МНС, образует комплекс с β_2-микроглобулином	ICO-44	Суперсемейство иммуноглобулинов
CD2	Т-клетки, тимоциты, натуральные киллеры	45—58	Адгезивная молекула, взаимодействует с CD58 (LFA-3), активирует Т-клетки	T11, LFA-2	Суперсемейство иммуноглобулинов
CD2R	Активированные Т-клетки	45—58	Конформационная форма CD2, зависящая от активации	T11-3	Суперсемейство иммуноглобулинов
CD3	Тимоциты, Т-клетки	γ25—28 δ20 ε20 ζ16 η22	Ассоциированы с Т-клеточным рецептором (ТКР), необходимы для экспрессии на клеточной поверхности и обеспечения сигнальной трансдукции ТКР	T3	Суперсемейство иммуноглобулинов (γδε). ζ/η родственны γ-цепи FcR
CD4	Субпопуляции тимоцитов, хелперные и воспалительные Т-клетки (около двух третей периферических Т-клеток), моноциты, макрофаги	55	Корецептор молекул II класса МНС. Рецептор для ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Взаимодействует с ick на цитоплазматической стороне клеточной мембраны	T4, L3T4	Суперсемейство иммуноглобулинов
CD5	Тимоциты, Т-клетки, субпопуляция В-клеток	67	Костимуляция Т-клеток. Взаимодействует с CD72	T1, Ly1	Рецепторы-мусорщики

Продолжение

CD-антиген	Клеточная экспрессия	Молекулярная масса, кДа	Функции	Другое название	Семейство
CD6	Тимоциты, Т-клетки, хроническая В-клеточная лейкемия	100–130	Адгезия. Активация Т-клеток	T12	Рецепторы-мусорщики
CD7	Плюрипотентные гемопоэтические клетки, тимоциты, Т-клетки	40	Маркер острой Т-клеточной лейкемии и лейкемии плюрипотентных гемопоэтических клеток		Суперсемейство иммуноглобулинов
CD8	Субпопуляции тимоцитов, цитотоксические Т-клетки (около одной трети периферических Т-клеток)	α32–34 β32–34	Корецептор молекул I класса МНС	T8, Lyt2,3	Суперсемейство иммуноглобулинов
CD9	Пре-В-клетки, эозинофилы, базофилы, тромбоциты	22–27	Возможная роль в агрегации и активации тромбоцитов		Белки, пронизывающие мембрану 4 раза
CD10	Прекурсоры В- и Т-клеток, стромальные клетки костного мозга	100	Zn-металлопротеиназа, маркер пре-В-острой лимфатической лейкемии	Антиген общей острой лимфоцитарной лейкемии (CALLA)	Содержащее Zn-металлопротеиназу
CD11a	Лимфоциты, гранулоциты, моноциты и макрофаги	160	α^L-Субъединица интегрина LFA-1 (образует комплекс CD18) взаимодействует с CD54 (ICAM-1), ICAM-2, ICAM-3	LFA-1	α-Интегрины
CD11b	Миелоидные клетки, натуральные киллеры	170	α^M-Субъединица интегрина CR3 (образует комплекс с CD18), взаимодействует с CD54, компонентом комплемента C3b и белками внеклеточного матрикса	CR3	α-Интегрины

Продолжение

CD-антиген	Клеточная экспрессия	Молекулярная масса, кДа	Функции	Другое название	Семейство
CD11c	Миелоидные клетки	150	α^X-Субъединица интегрина CR4 (образует комплекс с CD18), связывает фибриноген	CR4	α-Интегрины
CD12	Моноциты, грануциты, тромбоциты	90-120	Неизвестна		
CD13	Миеломоноцитарные клетки	150–170	Zn-металлопротеиназа	Аминопептидаза N	Содержащее Zn-металлопероксидазы
CD14	Миеломоноцитарные клетки	53–55	Рецептор для липополисахарида и липолисахарида, связанного с белком		
CD15	Нейтрофилы, эозинофилы, моноциты		Разветвленный пентасахарид гликолипидов и многих гликопротеинов клеточной поверхности. Сиализированная форма является лигандом для CD62E (ELAM)	Lewis-x (Le^X)	Углеводы
CD16	Нейтрофилы, натуральные киллеры, макрофаги	50–80	Компонент низкоаффиннного Fc-рецептора, принимает участие в фагоцитозе и антителозависимой, клеточнообусловленной цитотоксичности	FcγRIII	Суперсемейство иммуноглобулинов
CD17	Нейтрофилы, моноциты, тромбоциты		Лактозилцерамид		Углеводы
CD18	Лейкоциты	95	β_2-Субъединица интегрина, взаимодействует с CD11a, b и c		β-Интегрины

Продолжение

CD-антиген	Клеточная экспрессия	Молекулярная масса, кДа	Функции	Другое название	Семейство
CD19	В-клетки	95	Часть корецептора В-клеток, образует комплекс с CD21 (CR2) и CD81 (ТАРА-1)		Суперсемейство иммуноглобулинов
CD20	В-клетки	33–37	Возможная роль в регуляции активности В-клеток, образование Ca^{2+}-каналов		Белки, пронизывающие мембрану 4 раза
CD21	Зрелые В-клетки, фолликулярные дендритные клетки	145	Рецептор для компонентов комплемента C3d, вируса Epstein-Barr, совместно с CD19 и CD81 образует корецептор В-клеток	CR2	Белки, контролирующие активность комплемента
CD22	Зрелые В-клетки	α130 β140	Адгезия В-клеток на моноцитах и Т-клетках	BL-CAM	Суперсемейство иммуноглобулинов
CD23	Зрелые В-клетки, активированные макрофаги, эозинофилы, фолликулярные дендритные клетки, тромбоциты	45	Низкоаффинный рецептор для IgE, лиганд для CD19: CD21: CD81 корецептора	FcεRIII	Лектины С-типа
CD24	В-клетки, гранулоциты	35–45	Неизвестна	J11d	
CD25	Активированные Т-клетки, В-клетки и моноциты	55	α-Цепь рецептора для IL-2, образует комплексс CD122 и с γ-цепью IL-2R	Tac	Белки, контролирующие активность комплемента
CD26	Активированные В- и Т-клетки, макрофаги	110	Протеаза, вовлечена в проникновение ВИЧ в клетки	Дипептидилпептидаза IV	

Продолжение

CD-анти-ген	Клеточная экспрессия	Молекулярная , масса кДа	Функции	Другое название	Семейство
CD27	Медуллярные тимоциты, Т-клетки	50–55	Костимулятор Т-клеток		Рецепторы для фактора роста нервов (NGF)
CD28	Субпопуляции Т-, В-, и NK-клеток	44	Активация наивных Т-клеток, рецептор для костимулирующего сигнала (сигнала 2), взаимодействует с CD80 (В7.1) и CD86 (В7.2)	Тр44	Суперсемейство иммуноглобулинов
CD29	Лейкоциты	130	β_1-Субъединица, образует комплекс с CD49a в интегрине VLA-1	VLA-1 VLA-6	β-Интегрины
CD30	Активированные В-, Т- и NK-клетки	105–120	Передача сигнала (апоптоз)	Ki-1	Рецепторы для фактора роста нервов (NGF)
CD31	Моноциты, тромбоциты, гранулоциты, В-клетки, эндотелиальные клетки	130–140	Возможно, адгезивная молекула	PECA M-1	Суперсемейство иммуноглобулинов
CD32	Моноциты/макрофаги, гранулоциты, В-клетки, эозинофилы, тромбоциты	40	Низкоаффинный Fc-рецептор для агрегированного иммуноглобулина иммунных комплексов	FcγRII	Суперсемейство иммуноглобулинов
CD33	Предшественники миелоидных клеток, моноциты/макрофаги	67	Молекулы клеточной адгезии (CAM)		Суперсемейство иммуноглобулинов
CD34	Гемопоэтические предшественники, эндотелий капилляров	105–120	Лиганд для CD62L (L-селектина)		
CD35	Эритроциты, В-клетки, моноциты, нейтрофилы, эозинофилы, фолликулярные дендритные клетки	250	Рецептор 1 для комплемента, связывает C3b и C4b, обусловливает фагоцитоз	CR1	Белки, контролирующие активность комплемента

Продолжение

CD-антиген	Клеточная экспрессия	Молекулярная масса, кДа	Функции	Другое название	Семейство
CD36	Тромбоциты, моноциты, эндотелиальные клетки	88	Мишень распознавания при фагоцитозе	GPIV тромбоцитов	
CD37	Зрелые В- и Т-клетки, миелоидные клетки	40–52	Модулируют активацию В-клеток	gp52-40	Белки, пронизывающие мембрану 4 раза
CD38	Ранние В- и Т-клетки, активированные Т-клетки, В-клетки центров размножения, плазматические клетки	45	Передача сигнала (адгезия)	T10	
CD39	Активированные В- и NK-клетки, дендритные клетки	78	Принимает участие в адгезии В-клеток	gp80	
CD40	В-клетки, моноциты, дендритные клетки	50	Рецептор для костимуляции В-клеток; взаимодействует с CD40L	gp50	Суперсемейство NGF-рецепторов
CD40L	Активированные CD4 Т-клетки	39	Лиганд для CD40	T-BAM, gp39	ФНО-подобные белки
CD41	Тромбоциты, мегакариоциты	125/22 димер	a^{IIb}-Цепь интегрина, образует комплекс с CD61, при формировании GPIIb, взаимодействует с фибриногеном, фибронектином, фактором von Willibrand и тромбоспондином	GP^{IIb}	α-Интегрин
CD42 a, b, c, d	Тромбоциты, мегакариоциты	a: 23 b:135, 23 c: 22 d: 85	Взаимодействует с фактором von Willebrand, необходим для адгезии тромбоцитов в участках поражения	a: GPIX b:GPIbα c:GPIbβ d: GPV	

Продолжение

CD-анти-ген	Клеточная экспрессия	Молеку-лярная масса, кДа	Функции	Другое назва-ние	Семейство
CD43	Лейкоциты за исключением покоящихся В-клеток	115–135 (нейтрофилы), 95–115 (Т-клетки)	Взаимодействует с с CD54 (ICAM-1)	Лейко-зиалин, сиало-форин	Семейство муцинов
CB44	Лейкоциты, эритроциты	80–95	Взаимодействует с гиалуроновой кислотой, обусловливает адгезию лейкоцитов	Pgp-1	
CD45	Лейкоциты	200	Тирозинфосфотаза, усиливает прохождение сигнала через антигенный рецептор В- и Т-клеток, множественные изоформы есть результат альтернативного сплайсинга	Общий лейко-цитарный антиген (LCA), T200, B220	
CD 45 RO	Т- и В-субпопуляции, моноциты, макрофаги	180	Изоформа CD45, не содержащая А-, В- и С-экзоны		
CD 45 RA	В-клетки, Т-клеточные субпопуляции (наивные Т-клетки), моноциты/макрофаги	205–220	Изоформа CD45, содержащая А-экзон		
CD45 RB	Т-клеточные субпопуляции, В-клетки, моноциты/макрофаги, гранулоциты	190–220	Изоформа CD45, содержащая В-экзон	T200	
CD46	Гематопоэтические и другие ядерные клетки	56, 66	Мембранный белковый кофактор, взаимодействует с C3b и C4b, обеспечивая тем самым их деградацию фактором 1	MCP	Белки, контролирующие активность комплемента

Продолжение

CD-антиген	Клеточная экспрессия	Молекулярная масса, кДа	Функции	Другое название	Семейство
CD47	Все клетки	47–52	Неизвестна, связаны с группой крови Rh		
CD48	Лейкоциты	40–47	Адгезия, костимуляция Т-клеток	Blast-1	Суперсемейство иммуноглобулинов
CD49a	Активированные Т-клетки	210	α^1-Цепь β_1-интегрина, образует комплекс с CD29, взаимодействует с коллагеном, ламинином	VLA-1	α-Интегрины
CD49b	В-клетки, моноциты, тромбоциты	165	α^2-Цепь β_1-интегрина, образует комплекс с CD29, взаимодействует с коллагеном, ламинином	VLA-2	α-Интегрины
CD49c	В-клетки	125	α^3 -Цепь β_1-интегрина, образует комплекс с CD29, взаимодействует с ламинином, фибронектином	VLA-3	α-Интегрины
CD49d	В- и Т-клетки, тимоциты, моноциты/макрофаги, гранулоциты	150	α^4-Цепь β_1-интегрина, образует комплекс с CD29, взаимодействует с фибронектином, высоким эндотелием венул пейеровых бляшек, VCAM-1	VLA-4	α-Интегрины
CD49e	Т-клетки памяти, моноциты/макрофаги, тромбоциты	135/25 димер	α^5-Цепь β_1-интегрина, образует комплекс с CD29, взаимодействует с фибронектином	VLA-5	α-Интегрины
CD49f	Т-клетки памяти, тимоциты, моноциты/макрофаги, тромбоциты	120/25 димер	α^6-Цепь β_1-интегрина, образует комплекс с CD29, взаимодействует с ламинином	VLA-6	α-Интегрины

Продолжение

CD-антиген	Клеточная экспрессия	Молекулярная масса, кДа	Функции	Другое название	Семейство
CD50	Тимоциты, Т- и В-клетки, моноциты/макрофаги, гранулоциты	130	Адгезия, лиганд для LFA-1	ICAM-3	Суперсемейство иммуноглобулинов
CD51	Тромбоциты, мегакариоциты	125/24 димер	α^v-Цепь β_3-интегрина, образует комплекс с CD61, взаимодействует с витронектином, фактором von Willebrand, фибриногеном и тромбоспондином	Рецептор для витронектина	α-Интегрины
CD52	Тимоциты, Т- и В-клетки, но не плазмациты, моноциты/макрофаги, гранулоциты	21–28	Мишень для антител, используемых с терапевтическими целями, для истощения Т-клеток	Campath-1	
CD53	Лейкоциты	35–42	Неизвестна	MRC, OX44	Белки, пронизывающие мембрану 4 раза
CD54	Разные клетки	85–110	Межклеточная адгезивная молекула (ICAM-1), взаимодействует с CD11a/CD18 (LFA-1) и CD11b/CD18 (Mac-1) интегринами, рецептор для риновируса	ICAM-1	Суперсемейство иммуноглобулинов
CD55	Разные клетки	60–70	Фактор, усиливающий разрушение (DAF), взаимодействует с C3b, разрушает C3/C5-конвертазу	DAF	Белки, контролирующие активность комплемента
CD56	NK-клетки	175–185	Изоформа адгезивной молекулы нейральной клетки	NKH-1	Суперсемейство иммуноглобулинов

Продолжение

CD-антиген	Клеточная экспрессия	Молекулярная масса, кДа	Функции	Другое название	Семейство
CD57	NK-клетки, субпопуляции Т-клеток, В-клетки, моноциты/макрофаги		Олигосахарид, входит в состав многих поверхностных гликопротеинов клетки	HNK-1, Leu-7	
CD58	Разные клетки	55–70	Адгезивная молекула, лейкоцитарный функционально активный антиген-3 (LFA-3), взаимодействует с CD2	LFA-3	Суперсемейство иммуноглобулинов
CD59	Разные клетки	19	Связывает компоненты комплемента C8 и C9, блокирует формирование литического комплекса комплемента	Протестин, Мас-ингибитор	
CD60	Субпопуляции Т-клеток, тромбоциты, моноциты/макрофаги		Олигосахарид, входит в состав ганлиозидов		Углеводы
CD61	Тромбоциты, мегакариоциты	105	β_3-Цепь интегрина образует комплекс с CD41 (GP11b/11a) или CD51 (рецептором для витронектина)		β-Интегрины
CD62E	Эндотелиальные клетки	140	Эндотелиально-лейкоцитарная адгезивная молекула (ELAM), взаимодействует с сиалил-Levis^x, обусловливает динамическое взаимодействие нетрофилов с эндотелиальными клетками	ELAM, E-селектин	Лектины С-типа

Продолжение

CD-антиген	Клеточная экспрессия	Молекулярная масса, кДа	Функции	Другое название	Семейство
CD62L	В-и Т-клетки, моноциты/макрофаги, NK-клетки	150	Лейкоцитарная адгезивная молекула (LAM), взаимодействует с CD34, GlyCAM, обусловливает динамичное взаимодействие с эндотелиальными клетками	LAM-1, L-селектин, LECAM-1	Лектины С-типа
CD62P	Тромбоциты, мегакариоциты, эндотелиальные клетки	140	Адгезивная молекула, взаимодействует с сиалил-Levis^x,обеспечивает взаимодействие тромбоцитов с нейтрофилами, моноцитами, а также определяет динамичное взаимодействие нейтрофилов с эндотелиальными клетками	Р-селектин, PADGEM	Лектины С-типа
CD63	Активированные тромбоциты, моноциты/макрофаги	53	Неизвестна, является лизосомальным мембранным белком, транслоцируемым на клеточной поверхности после активации	Антиген активированных тромбоцитов	Белки, пронизывающие мембрану 4 раза
CD64	Моноциты/макрофаги	72	Высокоаффинный рецептор для IgG	FcγRI	Суперсемейство иммуноглобулинов
CD65	Миелоидные клетки		Олигосахаридный компонент церамид додекасахарида		Углеводы
CD66a	Нейтрофилы	160–180	Неизвестна, член семьи карциноэмбриональных антигенов (CAE)	Гликопротеин-1 желчи (BGP-1)	Суперсемейство иммуноглобулинов

Продолжение

CD-антиген	Клеточная экспрессия	Молекулярная масса, кДа	Функция	Другое название	Семейство
CD66b	Гранулоциты	95–100	Неизвестна, член семьи карциноэмбриональных антигенов (CAE)	Предшественник CD67	Суперсемейство иммуноглобулинов
CD66c	Нейтрофилы, карцинома толстой кишки	90	Неизвестна, член семьи карциноэмбриональных антигенов (CEA)	Неспецифический, перекрестнореагирующий антиген (NCA)	Суперсемейство иммуноглобулинов
CD66d	Нейтрофилы	30	Неизвестна, член семьи карциноэмбриональных антигенов (CAE)		Суперсемейство иммуноглобулинов
CD66e	Зрелые эпителиальные клетки толстой кишки, карцинома толстой кишки	180–200	Неизвестна, член семьи карциноэмбриональных антигенов (CEA)		Суперсемейство иммуноглобулинов
CD68	Моноциты/макрофаги, нейтрофилы, базофилы, лимфобласты	110	Неизвестна	Макросиалин	
CD69	Активированные Т- и В-клетки, активированные макрофаги	28–32 гомодимер	Быстро активируемый антиген	Активно-индуцируемая молекула (AIM)	Лектины С-типа
CD70	Активированные Т- и В-клетки, макрофаги	75, 95, 170	Неизвестна	Ki-24	
CD71	Активированные лейкоциты	90–95 гомодимер	Рецептор для трансферина	T9	
CD72	В-клетки	42 гомодимер	Неизвестна, лиганд для CD5	Lyb-2	Лектины С-типа

Продолжение

CD-антиген	Клеточная экспрессия	Молекулярная масса, кДа	Функции	Другое название	Семейство
CD73	Субпопуляции В- и Т-клеток	69	Экто-5′-нуклеотидаза, дефосфорилирует нуклеотиды, обеспечивает поступление нуклеозидов в клетки		
CD74	В-клетки, макрофаги, моноциты, клетки, экспрессирующие антигены II класса МНС	33, 35, 41, 43 (альтернативная активация и сплайсинг)	Инвариантная цепь, образует комплекс с антигеном II класса МНС	Ii	
CD75	Зрелые В-клетки, субпопуляции Т-клеток		Неизвестна, возможно, олигосахарид		
CD76	Зрелые В-клетки, субпопуляции Т-клеток		Неизвестна, возможно, олигосахарид		Углеводы
CD77	В-клетки центров размножения		Неизвестна	Глоботриацикло-рамид Gb_3; P^k группа крови	Углеводы
CD78	В-клетки		Неизвестна	Ba	
CD79 α, β	В-клетки	α:32–43 β:37–39	Компоненты В-клеточного антигенраспознающего рецептора, аналогичного CD3, требуется для клеточной экспресс sIg и сигнальной трансдукции	Igα, Igβ	Суперсемейство иммуноглобулинов
CD80	Субпопуляции В-клеток	60	Костимулятор, лиганд для CD28 и CTLA-4	B7.1	Суперсемейство иммуноглобулинов

Продолжение

CD-антиген	Клеточная экспрессия	Молекулярная масса, кДа	Функции	Другое название	Семейство
CD81	Т-, В- и NK-клетки	26	Связывается с CD19, CD21, чтобы сформировать В-клеточный корецептор	TAPA-1	Белки, пронизывающие мембрану 4 раза
CD82	Лейкоциты	50–53	Т-клеточная костимуляция, взаимодействует с CD4 или CD8	R2	Белок, пронизывающий мембрану 4 раза
CD83	Активированные В- и Т-клетки, циркулирующие дендритные клетки	43	Участие в презентации антигена	HB15	Суперсемейство иммуноглобулинов
CDw84	Моноциты/макрофаги, тромбоциты, циркулирующие В-клетки	73	Неизвестна	GR6	
CD85	Моноциты/макрофаги, циркулирующие В-клетки	120/83	Неизвестна	GR4	
CD86	Моноциты/макрофаги, активированные В-клетки	80	Костимулятор, взаимодействует с CD28, CTLA-4	B7.2	Суперсемейство иммуноглобулинов
CB87	Гранулоциты, моноциты/макрофаги, активированные Т-клетки	90–95	Рецептор для урокиназы — активатора плазминогена	UPA-R	
CD88	Полиморфноядерные лейкоциты, макрофаги, тучные клетки	40	Рецептор для компонента комплемента C5a	C5aR	Родопсиновое суперсемейство
CD89	Моноциты, макрофаги, гранулоциты, нейтрофилы, субпопуляции В- и Т-клеток	50–70	Рецептор для IgA	FcαR	Суперсемейство иммуноглобулинов
CD90	Протимоциты CD34^{+} (человек), тимоциты, Т-клетки (мыши)	18	Адгезия, участие в рециркуляции	Thy-1	Суперсемейство иммуноглобулинов

Продолжение

CD-антиген	Клеточная экспрессия	Молекулярная масса, кДа	Функции	Другое название	Семейство
CD91	Моноциты	600	Рецептор для α_2-макроглобулина		
CDw92	Нейтрофилы, моноциты, тромбоциты, эндотелиальные клетки	70	Неизвестна	GR9	
CD93	Нейтрофилы, моноциты, эндотелиальные клетки	120	Неизвестна	GR11	
CB94	Субпопуляции Т-клеток, NK-клетки	43	Взаимодействует с молекулами I класса MHC	KP43	Углеводы
CD95	Широкий набор клеточных линий, распределение in vivo неизвестно	43	Взаимодействует с TNF-подобным лигандом для-FasL; индукция апоптоза	Apo-1, Fas	Рецепторы для фактора роста нервов (NGF)
CD96	Активированные Т- и В-клетки	160	Взаимодействует с CD62E, P	TACTILE	Суперсемейство иммуноглобулинов
CD97	Активированные Т- и В-клетки, моноциты/макрофаги, гранулоциты	74, 80, 90	Взаимодействует с CD55	GR1	
CD98	Т-, В- и NK-клетки, все человеческие клеточные линии	80/40 гетеродимер	Модулирует уровень Ca^{2+} в клетке	4F2	
CD99	Лимфоциты	32	Адгезия кортикальных тимоцитов	MIC2, E2	
CD100	Широкая экспрессия на гематопоэтических клетках	150	Участие в пролиферации моноцитов	GR3	

Продолжение

CD-антиген	Клеточная экспрессия	Молекулярная масса, кДа	Функции	Другое название	Семейство
CD101	Активированные B-клетки, гранулоциты, моноциты/макрофаги	140	Активация Т-клеток дендритными клетками	BPC44	Суперсемейство иммуноглобулинов
CD102	Покоящиеся лимфоциты, моноциты, сосудистые эндотелиальные клетки (особенно сильна)	55–65	Взаимодействует с CD11a/CD18 (LFA-1), но не с CD11b/CD18 (Mac-1)	ICAM-2	Суперсемейство иммуноглобулинов
CD103	Внутриэпителиальные лимфоциты (2–6%), периферические лимфоциты крови	150, 25	Адгезия	α_E-Цепь интегрина	α-Интегрины
CD104	Эпителиальные клетки, шванновские клетки, некоторые опухолевые клетки	220	Адгезия	β_4-Цепь интегрина	β-Интегрины
CD105	Эндотелиальные клетки, субпопуляции клеток костного мозга, активированные in vitro макрофаги	95 гомодимер	Адгезия, лиганд для интегрина	Эндоглин	
CD106	Активированные эндотелиальные клетки	100, 110 гетеродимер	Адгезивная молекула, лиганд для VLA-4	VCAM-1	Суперсемейство иммуноглобулинов
CD107a	Активированные Т-клетки, тромбоциты, гранулоциты, эндотелиальные клетки	110	Лизосомальный мембранный белок, транслоцирующийся на клеточной поверхности после активации	LAMP-1	
CD107b	Активированные Т-клетки, тромбоциты, гранулоциты, эндотелиальные клетки	120	Лизосомальный мембранный белок, транслоцирующийся на клеточной поверхности после активации	LAMP-2	

Продолжение

CD-антиген	Клеточная экспрессия	Молекулярная масса, кДа	Функции	Другое название	Семейство
CD108	Активированные Т-клетки, некоторые стромальные клетки	80	Неизвестна	GR2	
CDw109	Активированные Т-клетки, тромбоциты, эндотелиальные клетки	170/50	Фактор активации тромбоцитов	GR56	
CD114	Моноциты/макрофаги	110–130	Рецептор для Г-КСФ и ИЛ-10		
CD115	Моноциты/макрофаги	150	Рецептор для макрофагального колониестимулирующего фактора (М-КСФ)	M-CSFR c-fms	Суперсемейство иммуноглобулинов
CD116	Моноциты, нейтрофилы, эозинофилы, эндотелиальные клетки	70–85	α-Цепь рецептора для гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (GM-CSF)	GM-CSFRα	Цитокиновые рецепторы
CD117	Гематопоэтические предшественники	145	Рецептор для фактора стволовых клеток	c-kit	Суперсемейство иммуноглобулинов
CD118	Широкая клеточная экспрессия		Рецептор для интерферонов-α, β	IFN-αβR	
CD119	Макрофаги, моноциты, В-клетки, эндотелиальные клетки и др.	90–100	Рецептор для интерферона-γ	IFN-γR	
CD120a	Разные клетки, наиболее высокий уровень на эпителиальных клетках	50–60	Рецептор для ФНО, взаимодействует как с ФНО-α, так и с ФНО-β	TNFR-1	Рецепторы для фактора роста нервов (NFG)

Продолжение

CD-антиген	Клеточная экспрессия	Молекулярная масса, кДа	Функции	Другое название	Семейство
CD120b	Разные клетки, наиболее высокий уровень на миелоидных клетках	75–85	Рецептор для ФНО, взаимодействует как с ФНО-α, так и с ФНО-β	TNFR-II	Рецепторы для фактора роста нервов (NFG)
CD121a	Тимоциты, Т-клетки	80	Рецептор для IL-1 I типа	IL-1R I типа	Суперсемейство иммуноглобулинов
CD121b	В-клетки, макрофаги, моноциты	60–70	Рецептор для IL-2 II типа	IL-1R II типа	Суперсемейство иммуноглобулинов
CD122	Натуральные киллерные клетки	75	β-Цепь рецептора для IL-2	IL-2Rβ	Цитокиновые рецепторы
CD123	Стволовые клетки костного мозга, гранулоциты, моноциты, макрофаги	70	α-Цепь рецептора для IL-3	IL-3Rα	Цитокиновые рецепторы, фибронектин III типа
CD124	Зрелые В- и Т-клетки, гематопоэтические прекурсорные клетки	130–150	Рецептор для IL-4	IL-4R	Цитокиновые рецепторы, фибронектин III типа
CD125	Эозинофилы, базофилы	55–60	α-Цепь рецептора для IL-5	IL-5Ra	Цитокиновые рецепторы, фибронектин III типа
CD126	Активированные В-клетки и плазматические клетки (сильная экспрессия), лейкоциты (слабая)	80	α-Цепь рецептора для IL-6	IL-6Rα	Суперсемейство иммуноглобулинов, цитокиновые рецепторы, фибронектин III типа

Продолжение

CD-антиген	Клеточная экспрессия	Молекулярная масса, кДа	Функции	Другое название	Семейство
CD127	Лимфоидные прекурсоры костного мозга, про-В-клетки, зрелые Т-клетки, моноциты	68–79, возможно образование гомодимеров	Рецептор для IL-7	IL-7R	Фибронектин III типа
CD128	Нейтрофилы, базофилы, субпопуляции Т-клеток	58–67	Рецептор для IL-8	IL-8R	Суперсемейство родопсина
CD129	Не установлена				
CD130	Активированные В-клетки и плазматические клетки (сильная экспрессия), большинство лейкоцитов (слабая), эндотелиальные клетки	130	Общая субъединица рецепторов для IL-6, IL-11, онкостатина М (OSM) и фактора инибиции лейкемии (LIF)	IL-6Rβ, IL-11Rβ, OSMRβ, LIFRβ	Суперсемейство иммуноглобулинов
CDw131	Стволовые клетки, гранулоциты	140	Общая β-цепь рецепторов для ИЛ-3 и ИЛ-5		Цитокиновые рецепторы
CD132	Т-, В- и NK-клетки, гранулоциты	64	Общая γ-цепь рецепторов для ИЛ-2, 4, 7, 9, 15		Цитокиновые рецепторы
CD134	Активированные Т-клетки	50	Возможно, молекула адгезии		Рецептор для фактора роста нервов (NGF)
CD135	Клетки-предшественники В-клеток, моноцитов/макрофагов, стволовые клетки	155, 130	Рецептор для раннего гемопоэтического цитокина		
CDw136	Моноциты/макрофаги	180	Хемотаксис, фагоцитоз, рост и дифференцировка клеток		Рецептор для фактора роста нервов (NGF)

Продолжение

CD-антиген	Клеточная экспрессия	Молекулярная масса, кДа	Функции	Другое название	Семейство
CDw137	Т- и В-клетки, моноциты/макрофаги	30	Костимулятор		Рецептор для фактора роста нервов (NGF)
CD138	В-клетки		Взаимодействует с коллагеном I типа	Синдекан	
CD139	В-клетки	228, 209			
CD140	Эндотелиальные клетки	180, 180	Рецептор для тромбоцитарного фактора роста		
CD141	Эндотелиальные клетки	105		Тромбомодулин	Лектины С-типа
CD142	Эндотелиальные клетки	46	Тканевой фактор	Тромбопластин	
CD143	Эндотелиальные клетки, активированные Т-клетки и NK-клетки	170–180	Фермент, конвертирующий ангитензин		Содержащие Zn-металлопротеиназы
CB144	Эндотелиальные клетки	135	Адгезия	VE-кадгерин	
CD145	Эндотелиальные клетки	110, 90, 25			
CD146	Эндотелиальные клетки	130			Суперсемейство иммуноглобулинов
CD147	Эндотелиальные клетки, Т-, В- и NK-клетки, моноциты/макрофаги, гранулоциты, тромбоциты	55–56	Адгезия	Нейротелин	Суперсемейство иммуноглобулинов

Продолжение

CD-антиген	Клеточная экспрессия	Молекулярная масса, кДа	Функции	Другое название	Семейство
CD148	Т-клетки, NK-клетки, моноциты/макрофаги, гранулоциты, дендритные клетки	250	Контактное ингибирование		
CDw149	Т-, В- и NK-клетки			MEM3	
CDw150	В-клетки	75–95	Передача сигнала	SLAM	
CB151	Эндотелиальные клетки, тромбоциты	32	Передача сигнала (адгезия)	PETA3	Белки, пронизывающие мембрану 4 раза
CD152	Активированные Т-клетки	33	Взаимодействует с CD80 и CD86	CTLA-4	Суперсемейство иммуноглобулинов
CD153	В-клетки, гранулоциты, активированные Т-клетки, моноциты/макрофаги	38–40	Взаимодействует с CD30	CD30L	ФНО-подобные белки
CD154	Активированные Т-клетки	32–39	Взаимодействует с CD40	CD40L	Рецептор для фактора роста нервной ткани (NGF)
CD155	Тимоциты, моноциты/макрофаги	80–90	Рецептор вируса полиомиелита		Суперсемейство иммуноглобулинов
CD156	Моноциты/макрофаги, гранулоциты	60–70		ADAMS	
CD157	Моноциты/макрофаги, гранулоциты, фолликулярные дендритные клетки, эндотелиальные клетки	42–50		ADP-рибозилциклаза	

Окончание

CD-антиген	Клеточная экспрессия	Молекулярная масса, кДа	Функции	Другое название	Семейство
CD158a	NK-клетки	58, 50	Взаимодействует с молекулами I класса MHC	KIR, p58.1, p50.1	Суперсемейство иммуно-глобулинов
CD158b	NK-клетки	58, 50	Взаимодействует с молекулами I класса MHC	KIR, p58.2, p50.3	Суперсемейство иммуно-глобулинов
CD158c	NK-клетки	58, 50	Активация (цитотоксичность)	p58.2, p50.2	Суперсемейство иммуно-глобулинов
CD161	NK- и T-клетки	44	Модулирует цитотоксичность	NKRP-1	Лектины С-типа
CD162	Т- и В-клетки, моноциты/макрофаги, гранулоциты	240	Взаимодействует с Р-селектином	PSGL-1	
CD163	Моноциты/макрофаги	130		M130	
CD164	Стволовые клетки	80	Адгезия к стромальным клеткам	MGC-24	
CD165	Тимоциты, NK-клетки, гранулоциты	37	Адгезия к эпителию тимуса	AD2	
CD166	Активированные Т- и В-клетки	100	Взаимодействует с CD6	ALCAM	Суперсемейство иммуно-глобулинов

СЛОВАРЬ ТЕРМИНОВ

Абзимы — антитела с ферментативной (как правило, гидролазной) активностью; присутствуют в норме; при патологии их уровень может существенно повышаться.

Авидность — суммарная сила множественных («многоточечных») взаимодействий между клетками или молекулами, что отличает этот показатель взаимодействия от аффинности как силы взаимодействия отдельного участка в системе рецептор—лиганд.

Агаммаглобулинонемия Х-сцепленная — иммунодефицитное состояние, связанное с дефектом гена, контролирующего синтез тирозинкиназы btk; при этой форме иммунодефицита развитие В-клеток завершается на этапе формирования предшественника В-клеток (пре-В-клеток); зрелые В-клетки и антитела не образуются.

Агглютинация — реакция агрегации клеток или корпускулярных частиц (например, липосом); в иммунологии используется для описания взаимодействия клеток со специфическими антителами, где антитела выступают в качестве связующего звена между клетками; реакция взаимодействия эритроцитов с соответствующими антителами получила название гемагглютинации.

Адаптивный (приобретенный) иммунный ответ — специфический по отношению к антигену ответ, осуществляемый клонами Т- и В-клеток, имеющих соответствующие антигенраспознающие рецепторы.

Адгезивные молекулы — белки (интегрины, селектины и др.), экспрессирующиеся в основном на клеточной поверхности и обеспечивающие взаимодействия между клетками или между клетками и эндотелием сосудов, внеклеточным матриксом; неспецифические по отношению к иммунному ответу, но помогающие формированию последнего, обеспечивая миграцию клеток или усиливая межклеточные контакты в процессе распознавания антигена.

Адоптивный иммунитет — иммунитет, вызываемый у интактного реципиента переносом лимфоидных клеток от активно иммунизированного донора.

Адъювант — вещество, усиливающее иммунный ответ при одновременном его введении с антигеном в виде общей смеси или комплекса.

Адъювант Фрейнда — водно-масляная эмульсия, которую используют для повышения иммуногенности вносимого в нее антигена; полный а. Ф., в отличие от неполного, дополнительно содержит убитые клетки микобактерий туберкулеза.

Активация клеток — переход клеток из покоящегося в функционально активное состояния; в иммунологии — активация лимфоцитов, макрофагов, нейтрофилов и других клеток, принимающих участие в иммунном ответе.

Аллели — варианты одного и того же гена, расположенные на гомологичных хромосомах; определяют полиморфизм особей вида по тому или иному признаку; в иммунологии — аллели изотипов иммуноглобулинов, молекул главного комплекса гистосовместимости, маркеров лимфоцитов и др.

14. Заказ № 67.

Аллельное исключение – продукция гетерозиготной клеткой одного из двух возможных аллельных фенотипических вариантов; наблюдается при синтезе аллельных форм иммуноглобулинов и Т-клеточного рецептора, когда одна из аллельных форм не образуется.

Аллергия – форма иммунологического ответа, проявляющаяся в повышенной реактивности организма на антиген (аллерген); применяется для обозначения реакции гиперчувствительности I типа.

Аллерген – антиген внешней среды, инициирующий аллергическую реакцию гиперчувствительности немедленного типа.

Аллергическая астма – реакция бронхоспазма, провоцируемая вдыхаемым аллергеном.

Аллергическая реакция – ответ предсуществующих антител на контакт организма с аллергеном; наиболее типичным проявлением реакции является взаимодействие аллергена с предсуществующими IgE-антителами, связанными с тучными клетками или базофилами, которые после взаимодействия секретируют медиаторы воспаления.

Аллергический ринит – аллергическая реакция в слизистой полости носа.

Аллореактивность – термин, используемый в основном для описания реакции Т-клеток на аллоантигены МНС.

Аллотипы иммуноглобулинов – полиморфные формы иммуноглобулинов, связанные с изменением аминокислотной последовательности в тяжелых цепях одного и того же класса этих молекул.

Аллоантигены – антигены клеток и тканей, отличающиеся от иммунизируемого реципиента на внутривидовом (индивидуальном) уровне.

Аллогенная ингибиция (гибридная резистентность) – подавление роста и развития клеток и тканей в генетически чужеродном микроокружении при отсутствии процессов отторжения иммунологической природы.

Аллотрансплантация – пересадка органов или тканей между генетически отличающимися особями одного и того же вида или между особями разных инбредных линий определенного вида животных.

Альтернативный путь активации комплемента – инициируется взаимодействием компонента комплемента C3b с поверхностью бактериальной клетки; активация происходит без участия антител; данный путь активации комплемента относится к факторам врожденного неспецифического иммунитета.

Анафилактический шок – острая форма аллергической реакции на систематически поступающий в организм антиген, что приводит к отеку дыхательных путей, удушью, коллапсу; в основе реакции лежит массированное взаимодействие антигена с IgE-антителами на тучных клетках соединительной ткани.

Анергия – состояние неотвечаемости клеток к внешним стимулам; в иммунологии – отсутствие реакции к антигену со стороны Т- или В-клеток.

Антиген – структурно чужеродное для данного конкретного организма вещество, способное вызвать иммунный ответ.

Антигенная детерминанта *см.* эпитоп.

Антигенная специфичность – структурные особенности, отличающие определенный антиген от индивидуального, антигенного состава иммунизируемого организма; в ряде случаев антигенная специфичность не подразумевает способности носителей этой специфичности вызывать иммунный ответ; гаптены обладают антигенной специфичностью, реагируя с предсуществующими антителами, но сами не могут вызвать их образование.

Антигенпредставляющие (антигенпрезентирующие) клетки – высокоспециализированные клетки, способные к поглощению и переработке антигена, а также представлению пептидных антигенных фрагментов на клеточной поверхности в комплексе с молекулами I или II классов главного комплекса гистосовместимости (МНС); основные антигенпредставляющие клетки: макрофаги, дендритные клетки, В-лимфоциты.

Антигенраспознающий В-клеточный рецептор (поверхностный иммуноглобулин – sIg) – поверхностная мономерная форма иммуноглобулина, относящегося к классу IgM; способен взаимодействовать со свободным антигеном, не связанным с какими-либо дополнительными молекулами.

Антигенраспознающий Т-клеточный рецептор (TCR) – αβ-гетеродимер, экспрессирующийся на поверхности Т-клеток в комплексе с однодоменными С3-белками; основная функция – распознавание иммуногена (антигенного пептида), ассоциированного с молекулами I или II классов главного комплекса гистосовместимости на поверхности антигенпрезентирующей клетки.

Антигенсвязующий участок (антигенкомбинирующий участок, активный центр антител) – N-концевой участок антител и антигенраспознающих рецепторов, взаимодействующий с антигеном посредством прямого физического контакта; образуется тремя гипервариабельными петлями V-доменов от каждой из тяжелой и легкой цепей.

Антигены групп крови – поверхностные молекулы эритроцитов, которые обнаруживаются антителами от индивидуума, не имеющего данного антигена; антигены одной группы контролируются аллельными генами; главные антигены представлены группой крови АВО и Rh-системой.

Антисыворотка – жидкая часть крови, которая содержит антитела против антигенов, использованных для иммунизации.

Антитела (специфические иммуноглобулины) – белки сыворотки крови, продуцируемые плазмацитами в ответ на введение антигена; характерная особенность антител – строгая специфичность по отношению к введенному в организм антигену.

Антителозависимая, обусловленная клетками цитотоксичность (АЗКЦ) — разрушение клеток-мишеней, покрытых антителами, эффекторными клетками, имеющими Fc-рецептор; в основном клетками-эффекторами являются натуральные киллеры и макрофаги, обладающие рецептором к Fc-фрагменту иммуноглобулинов.

Антителообразующая клетка (АОК) — плазматическая клетка, секретирующая антитела.

Апоптоз — программированная клеточная смерть как нормальный физиологический процесс, сопровождающийся деградацией ядерной ДНК, дегенерацией ядра и последующим фагоцитозом погибшей клетки.

Армированные макрофаги — макрофаги, которые приобрели специфичность по отношению к антигену благодаря фиксации на их поверхности соответствующих антител.

Армированные Т-клетки — лимфоциты, прошедшие постантигенный путь активации и способные к непосредственному выполнению своей функции.

Артюса феномен — реакция на локальное образование большого количества иммунных комплексов (антиген—антитело).

Атопическая аллергия (атопия) — наследственно обусловленная предрасположенность к развитию реакции гиперчувствительности немедленного типа к аллергену; зависит от повышенного содержания IgE, особенностей распределения тучных клеток, проницаемости тканевых барьеров и т.д.

Аттенуированный патоген — патоген, сохранивший свою иммуногенность, но потерявший способность вызывать острое инфекционное заболевание; аттенуация патогена лежит в основе одного из способов получения вакцинного материала.

Аутоантигены — антигены собственных клеток, полимерных молекул конкретного индивидуума.

Аутоантитела — антитела, специфичные к собственным антигенам индивидуума.

Аутоиммунитет — явление разрушения собственных клеток и тканей организма аутоантителами или Т-клетками, примированными к собственным антигенам.

Аутоиммунная гемолитическая анемия — патологическое состояние, характеризующееся крайне низким содержанием эритроцитов в результате их разрушения соответствующими по специфичности аутоантителами.

Аутокринный — определение, которое указывает на взаимодействие цитокина с клеткой, продуцирующей данный цитокин.

Аутотрансплантация — пересадка ткани с одного участка тела на другой у того же самого индивидуума.

Аутотолерантность — ареактивность к собственным антигенам как нормальное физиологическое состояние организма; формируется в результате отрицательной се-

лекции аутоклонов В- и Т-клеток на территории костного мозга соответственно.

Аффинность – сила связывания (степень сродства) между отдельными участками взаимодействующих молекул (например, взаимодействие молекулы антигена с молекулой антитела).

Белая пульпа – участки селезенки, заполненные лимфоцитами; место развития иммунного ответа.

Белки острой фазы – белки, обнаруживаемые в крови вскоре после проникновения инфекционного агента; принимают участие в ранней фазе защиты организма от инфекции (например, С-реактивный белок, белок, связывающий маннозу).

Белок А и белок G – компоненты клеточной стенки некоторых штаммов стафилококков; связываются с Fc-фрагментом IgG.

Бляшкообразующие клетки (БОК) – клетки, секретирующие антитела; выявляются in vitro по способности лизировать вокруг себя корпускулярный антиген (обычно эритроциты), использованный для иммунизации.

Большие гранулярные лимфоциты – клетки со значительным количеством включений (гранул), по размеру больше, чем типичные лимфоциты, к категории этих клеток относятся К-клетки (киллерные клетки) и НК-клетки (натуральные киллеры); имеют ряд маркеров, общих с лимфоцитами и моноцитами/макрофагами.

БЦЖ (от англ. BCG – бацилла Кальметта–Герена) – аттенуированный штамм Mycobacterium tuberculosis, используемый в качестве вакцины; применяется так же, как составной компонент полного адъюванта Фрейнда.

Вакцина – препарат, лишенный патогенных свойств возбудителя того или иного инфекционного заболевания (аттенуированный), но сохраняющий иммуногенные свойства, обеспечивающие развитие иммунного ответа; применяется для профилактики инфекционного заболевания.

Вакцинация – процесс искусственной иммунизации, осуществляемый путем введения в организм вакцины; проводится для повышения устойчивости людей или сельскохозяйственных животных к инфекционным заболеваниям.

Вариабельная область (V-область) – N-концевая часть иммуноглобулина или Т-клеточного рецептора, ответственная за специфическое связывание антигена (иммуногена); формируется в результате взаимодействия V-доменов тяжелой и легкой цепей иммуноглобулинов или α-, β-цепей Т-клеточного рецептора.

Вариабельность иммуноглобулинов – индивидуальная характеристика иммуноглобулинов, относящихся к одному и тому же классу или подклассу; обусловлена меняющейся от белка к белку последовательностью аминокислотных остатков в N-концевой части молекулы; отражает антигенсвязующую специфичность иммуноглобулинов как антител.

Вид — основная структурная единица в системе живых организмов и основная таксономическая категория в биологической систематике; совокупность популяций особей, способных к неограниченному скрещиванию с образованием плодовитого потомства, населяющих определенный ареал, обладающих общими морфофизиологическими признаками и формами взаимодействия с внешней средой.

Видообразование — процесс возникновения новых видов от одной или нескольких исходных популяций определенного вида; разветвление предковой филетической линии на несколько новых.

Вирус иммунодефицита человека (ВИЧ) — инфекционный агент, вызывающий развитие синдрома приобретенного иммунодефицита человека (СПИД); является ретровирусом семейства лентивирусов, инфицирующим в основном CD4 Т-клетки, что приводит к их постепенному истощению.

Вирус Эпштейна—Барра (англ. Epstein—Barr virus) — возбудитель лимфомы Беркитта и инфекционного мононуклеоза; селективно инфицирует В-клетки человека, взаимодействуя с рецептором к комплементу (CD21); вызывает длительную латентную инфекцию В-клеток, которая контролируется Т-клетками.

Воспаление — реакция организма на тканевое повреждение, инфекцию; характеризуется повышением проницаемости сосудов, накоплением жидкости и клеток в месте инфекции или физического повреждения.

Воспалительные CD4 Т-клетки (T_H1) — субпопуляция Т-клеток, способствующая внутриклеточному разрушению патогена макрофагами; основные цитокины, продуцируемые этими клетками: интерферон-γ и фактор некроза опухолей.

Вспомогательные клетки — клетки, которые оказывают помощь при развитии иммунного ответа, но сами не способны к специфическому распознаванию антигена; к ним относятся фагоциты, включая в первую очередь макрофаги, натуральные киллерные клетки, тучные клетки.

Вспышка клеточного дыхания — резкое усиление окислительных процессов в фагоцитах после поглощения чужеродного материала, включая антигены.

Вторичный иммунный ответ — усиленная иммунная реакция в ответ на повторное введение антигена, использованного при его первичном введении.

Гаплотип — набор сцепленных генов одной гаплоидной хромосомы; гаплотипы гомологичных хромосом идентичны; гаплотипы гетерологичных хромосом могут отличаться (например, у инбредных линий мышей, являющихся гомозиготными, гаплотипы по Н-2-комплексу на гомологичных хромосомах идентичны; гибриды двух инбредных линий имеют Н-2-гаплотипы от каждого из родителей).

Гаптены — простые химические соединения в основном ароматического ряда, не обладающие иммуногенностью, но характеризующиеся антигенной специфичностью, что определяется по их способности взаимодействовать с предсуществующими антителами.

Гемолитическая болезнь новорожденных – острое гемолитическое заболевание, вызванное Rh-несовместимостью между матерью и плодом; Rh-отрицательная мать в процессе беременности образует анти-Rh-антитела, атакующие Rh-положительные эритроциты плода, в результате в периферической крови развивающегося эмбриона накапливаются в значительном количестве незрелые эритробласты на фоне практически полного отсутствия зрелых форм.

Ген – функционально неделимая единица генетического материала, расположенная в конкретном участке (локусе) определенной хромосомы; состоит из специфической последовательности нуклеотидов ДНК: контролирует синтез первичной структуры полипептида; синтез специфических иммуноглобулинов как исключение контролируется двумя генами.

Геном — совокупность генов, характерная для гаплоидного набора хромосом данного вида организмов.

Генотип — генетическая (наследственная) конституция организма, совокупность всех наследственных факторов (генов) данной клетки или организма, включая аллели генов, характер их физического сцепления в хромосомах и наличие хромосомных перестроек.

Генофонд — совокупность всех генов, которые имеются у особей определенной популяции или вида в целом.

Гены иммунного ответа (Ir-гены) – гены, контролирующие силу иммунного ответа; локализованы в I-области главного комплекса гистосовместимости; фенотипическим продуктом Ir-генов являются молекулы II класса главного комплекса гистосовместимости.

Гетерогенность иммуноглобулинов – свойство, обусловленное константной частью молекулы, т.е. теми структурными особенностями, которые позволяют делить все иммуноглобулины на классы (изотипы), подклассы, аллотипы и типы легких цепей.

Гибридома – гибридная клеточная линия, полученная в результате слияния антителопродуцирующей клетки с миеломной, активно пролиферирующей клеткой, у которой отсутствует собственный синтез иммуноглобулинов; гибридома образует высокоаффинные антитела узкой специфичности.

Гипервариабельные участки – положения в аминокислотной последовательности V-доменов, в которых наиболее часто встречаются замены аминокислот; эти замены от белка к белку определяют специфичность иммуноглобулинов и антигенраспознающих рецепторов.

Гипериммунизация – неоднократно повторяющаяся иммунизация организма с целью получить максимально возможный иммунный ответ.

Гиперчувствительность замедленного типа (ГЗТ) – одна из реакций клеточного иммунитета, инициируемая антигеном при внутрикожном введении; реакция обусловлена CD4 Т-клетками воспаления (T_H1); время развития реакции от нескольких часов до 1–2 суток после введения антигена.

Гиперчувствительность немедленного типа – реакция повышенной чувствительности, развивающаяся сразу же после проникновения в предварительно сенсибилизированный организм антигена (аллергена); реакция зависит от специфических к аллергену IgE и IgG, связанных с поверхностью тучных клеток и базофилов.

Гиперчувствительность тип I – реакция повышенной чувствительности, развивающаяся при участии IgE.

Гиперчувствительность тип II – реакция повышенной чувствительности, развивающаяся при участии IgG.

Гиперчувствительность тип III – реакция повышенной чувствительности, обусловленная комплексом антиген–антитело.

Гиперчувствительность тип IV – реакция повышенной чувствительности, обусловленная CD4 Т-клетками воспаления (T_H1).

Гистамин (5-β-имидазолилэтиламин) – один из медиаторов аллергических реакций; содержится в гранулах тучных клеток; высвобождается в результате дегрануляции после взаимодействия аллергена с IgE, сорбированным на поверхности тучных клеток.

Гистосовместимость – приживление трансплантированных органов или тканей, зависящее от идентичности тканевых антигенов между донором трансплантата и реципиентом.

Главный комплекс гистосовместимости (MHC, от англ. major histocompatibility complex) – группа близкосцепленных генов, кодирующих в основном иммунологически значимые молекулы трех классов; наиболее значимыми являются молекулы I класса, принимающие участие в инициации ответа CD8 Т-клеток, и молекулы II класса, обеспечивающие включение в иммунный ответ CD4 Т-клеток.

Голые или бестимусные мыши – линия мышей с врожденным отсутствием тимуса и шерстного покрова.

Гранзимы – сериновые эстеразы, содержащиеся в гранулах цитотоксических Т-клеток и натуральных киллеров; принимают участие в разрушении клеток-мишеней.

Гранулоциты – клетки гемопоэза: нейтрофилы, эозинофилы, базофилы, обладающие микроскопически хорошо выявляемыми внутриклеточными включениями – гранулами.

Грудной проток – основной лимфатический сосуд, собирающий лимфу из периферических тканей, которая затем поступает в кровь в месте соединения протока с левой подключичной веной.

Группы крови – антигены эритроцитов, контролируемые полиморфными аллельными генами; у человека известны группы крови: АВО, Rh (резус), MN и др.

Гуморальный – относящийся к внеклеточной жидкости организма, включая кровь и лимфу.

Гуморальный иммунный ответ – специфический иммунный ответ, обусловленный антителами.

Делеция – удаление последовательности нуклеотидов, входящих в некодирующую (интронную) часть ДНК, расположенных между кодирующими последовательностями (экзонами); наблюдается в процессе клеточной дифференцировки.

Дендритные клетки – класс клеток, локализованных в Т- и В-клеточных зонах лимфоидной ткани; наиболее характерная морфологическая особенность – наличие разветвленных псевдоподий; способны представлять антиген в иммуногенной форме на своей поверхности; наиболее сильные антигенспецифические стимуляторы Т-клеток.

Дефензины – низкомолекулярные, антибактериальные белки, продуцируемые фагоцитирующими клетками.

Диапедез – перемещение клеток крови (в основном лейкоцитов) из кровяного русла через эндотелий сосудистой стенки в ткани.

Донор – в трансплантологии или экспериментальной клеточной иммунологии организм, от которого получают материал для его введения в другой организм (реципиент).

Дупликация генов – увеличение числа (реплицирование) генов на хромосоме от исходного предкового гена; тандемно реплицированные гены наследуются по полигенному типу и контролируют синтез самостоятельных гомологичных белков (например, тяжелых цепей различных классов иммуноглобулинов).

Зародышевая линия организации генов иммуноглобулинов – исходная наследственно обусловленная локализация иммуноглобулиновых генов в геноме зародышевых клеток, соматических, не иммунокомпетентных клеток взрослого организма, предшественников В-клеток до начала процесса рекомбинации.

Зародышевые центры – клеточные структуры, формирующиеся в лимфоидных фолликулах и содержащие В-клетки, плазмациты, дендритные клетки. Место, где реализуется селекция высокоаффинных клонов В-клеток, переключение изотипов иммуноглобулинов, образование плазмацитов и В-клеток памяти, усиленный мутагенез V-генов иммуноглобулинов.

Зачаток тимуса – эпителиальная ткань экто-эндодермального происхождения, из которой развивается строма тимуса в течение эмбриогенеза.

Идиотип – антигенная характеристика вариабельной, антигенсвязующей области иммуноглобулинов.

Изотипы иммуноглобулинов (антител) – все иммуноглобулины по структурным особенностям константной области тяжелых цепей делятся на пять изотипов (классов): IgM, IgG, IgA, IgE и IgD.

Иммунная система – относительно автономная система организма, основная функция которой организация иммунной защиты от антигенно чужеродного материала; систе-

ма включает: центральные органы иммунитета (костный мозг, тимус), периферические органы иммунитета (селезенка, лимфатические узлы, лимфоидные скопления желудочно-кишечного тракта), клетки (различные популяции и субпопуляции лимфоцитов, антигенпрезентирующие клетки), эффекторные молекулы (Т-клеточный рецептор, классы иммуноглобулинов) и регуляторные молекулы (цитокины).

Иммунитет – способ защиты организма от всех антигенно чужеродных веществ как экзогенной, так и эндогенной природы; фактор стабильности онтогенеза.

Иммунитет неспецифический (врожденный) – представляет систему предсуществующих защитных реакций организма, присущих данному виду как наследственно обусловленное свойство.

Иммунитет специфический – способ защиты организма от антигенно чужеродного материала, в основе которого лежит принцип антигенспецифической клональной организации Т- и В-клеток и продукция этими клетками специфических к конкретной антигенной детерминанте эффекторных молекул (Т-клеточных рецепторов, специфических антител).

Иммунные комплексы – агрегаты антигена со специфическими антителами.

Иммуногенетика – раздел иммунологии, занятый изучением четырех основных проблем: 1) генетики гистосовместимости; 2) генетического контроля структуры иммуноглобулинов и других иммунологически значимых молекул (цитокинов, молекул МНС и др.); 3) генетического контроля силы иммунного ответа; 4) генетики антигенов.

Иммуногенность – способность антигенов индуцировать иммунный ответ.

Иммуноглобулины *см.* антитела.

Иммунодефицитные заболевания – ряд патологичских состояний, связанных с нарушением в работе тех или иных звеньев иммунной системы; первичные иммунодефициты наследственно обусловлены и зависят от нарушений в генах, контролируюших различные функциональные проявления иммунной системы; вторичные иммунодефициты индуцируются неблагоприятными факторами внешней или внутренней среды.

Иммунологическая толерантность – специфическая по отношению к собственному или введенному антигену неотвечаемость иммунной системы.

Иммунологическая память – долговременное сохранение способности иммунной системы отвечать более сильной реакцией на повторную встречу с антигеном, вызвавшим первичный ответ.

Иммунологический надзор – контроль за постоянством антигенной структуры клеток организма (внутренней среды) со стороны иммунной системы; основным объектом контроля являются мутационно измененные собственные клетки.

Иммунология – медико-биологическая дисциплина, изучающая способы защиты организма от всех антигенно чужеродных веществ (патогенов, трансплантатов, опухолевых клеток).

Иммуномодуляция – направленное воздействие (обычно фармакологическими средствами) на иммунную систему с целью повышения или понижения ее функциональной активности.

Иммунопатология – нарушения в работе иммунной системы; выделяют четыре основных типа: иммунодефициты, аутоиммунные, аллергические и лимфопролиферативные состояния.

Иммунотерапия – методы лечения заболеваний, связанных как с нарушениями в работе самой иммунной системы, так и заболеваний, в патогенезе которых принимают участие иммунные механизмы.

Иммунотоксины – конъюгаты токсинов со специфическими антителами или их фрагментами, выступающие в качестве векторов для доставки токсина в пораженные ткани или клетки (например, опухолевые).

Инбредная линия – линия животных (в иммунологии главным образом мыши). все особи которой гомозиготны и генетически идентичны.

Интегрины – адгезивные гетеродимерные белки клеточной поверхности; принимают участие в межклеточных взаимодействиях или взаимодействии клеток с матриксом; выполняют важную роль в контактной связи лимфоцитов с антигенпрезентирующими клетками и при миграции лимфоцитов и лейкоцитов в ткани.

Интерлейкины (ИЛ) – цитокины, продуцируемые лимфоцитами, макрофагами, натуральными киллерами и другими клетками; основная функция – регуляция иммунитета.

Интерфероны (ИФН) – цитокины, подавляющие внутриклеточное размножение вирусов; интерферон-α и интерферон-β продуцируются лейкоцитами, фибробластами и другими клетками; интерферон-γ – продукт CD4 Т-клеток воспаления, CD8 Т-клеток, натуральных киллеров; активирует макрофаги.

Интрон – некодирующий участок гена, расположенный между экзонами.

Каркасные участки – положения в аминокислотной последовательности V-доменов, в которых замены аминокислот от белка к белку встречаются редко в отличие от гипервариабельных участков; такие каркасные участки определяют конформационный консерватизм V-доменов.

Киллерные Т-клетки – общее название для лимфоцитов, способных к разрушению чужеродных клеток; основные киллерные клетки – цитотоксические CD8 Т-лимфоциты.

Кислородный взрыв – быстрое образование продуктов частичного восстановления кислорода, свободных радикалов, перекисей в процессе поглощения инородного материала фагоцитирующими клетками; обеспечивает высокую бактерицидную активность клеток.

Классический путь активации комплемента – инициируется взаимодействием C1q с антителами, которые связаны с поверхностными антигенами бактериальной клетки; в результате последующего развития каскада реакций образуются белки с цитолитической (киллерной) активностью, опсонины, хемоаттрактанты.

Кластеры дифференцировки (англ. CD) – характерологические молекулы клеточной поверхности, выявленные с помощью набора моноклональных антител к различным эпитопам одной и той же молекулы.

Клетки Лангерганса – фагоцитирующие клетки эпидермиса; мигрируют из эпидермиса в региональные лимфатические узлы, где дифференцируются в дендритные клетки.

Клетки памяти – B- и T-клетки, образующиеся при первичной иммунизации и сохраняющиеся в организме длительное время; обеспечивают ускоренный, более сильный иммунный ответ при повторной встрече организма с антигеном (патогеном), использованным для первичной иммунизации.

Клеточная иммунология – раздел иммунологии, занятый изучением клеточных основ иммунитет.

Клиническая иммунология – раздел иммунологии, задачи которого изучение и применение в клинике данных по иммунопатологии, участию иммунных механизмов в развитии неиммунных заболеваний, разработке способов иммунокоррекции как основного терапевтического приема в восстановлении нормальной работы иммунной системой.

Клон – в клеточной биологии и иммунологии популяция клеток, возникшая от одного общего предшественника; все клетки клона генетически полностью идентичны.

Клональная экспансия – активная пролиферация антигенспецифических лимфоцитов в ответ на стимуляцию соответствующим антигеном и их последующая дифференцировка в зрелые эффекторы; накопление антигенспецифического клона – необходимое условие полноценной реализации адаптивного иммунитета.

Клональное истощение – элиминация незрелых лимфоцитов, взаимодействующих с собственными антигенами на территории костного мозга (для B-клеток) или тимуса (для T-клеток); процесс, обеспечивающий толерантность к собственным антигенам (self-толерантность).

Кодоминантность – проявление у гетерозиготы признаков обоих аллелей, например, гетерозиготы по генам I и/или II классов MHC одновременно экспрессируют молекулы, контролируемые каждой из аллелей.

Колониестимулирующие факторы – разновидность цитокинов, действующих на клетки-предшественники геммо- и лимфопоэза, обеспечивая их выживаемость, дифференцировку и рост.

Комплемент (система комплемента) – группа белков, действующая совместно для удаления внеклеточных форм патогена; система активируется либо спонтанно опреде-

ленными патогенами, либо комплексом антиген–антитело; активированные белки либо непосредственно разрушают патоген (киллерное действие), либо обеспечивают лучшее их поглощение фагоцитами (опсонизирующее действие), либо выполняют функцию хемотаксических факторов, привлекая в зону проникновения патогена клетки воспаления (см. также альтернативный путь активации комплемента, классический путь активации комплемента).

Конгенные линии – линии животных (в иммунологии в основном мыши), являющиеся генетически идентичными между собой за исключением одного какого-либо локуса; у конгенных линий мышей – различия по главному комплексу гистосовместимости.

Константная область (С-область) – инвариантная часть тяжелой и легкой цепей иммуноглобулинов, ответственная за их гетерогенность; состоит из одного С-домена у легких цепей и трех или четырех С-доменов у тяжелых цепей в зависимости от изотипа иммуноглобулинов.

Кора тимуса (кортикальная зона, корковое вещество) – гистологически внешняя зона каждой, отдельно взятой дольки тимуса; место, где предшественники Т-клеточного пути развития пролиферируют, реорганизуют гены Т-клеточных рецепторов, подвергаются положительной селекции при взаимодействии с молекулами I или II классов МНС на кортикальных эпителиальных клетках.

Корецептор – белок клеточной поверхности, усиливающий взаимодействие антигенного рецептора с антигеном и принимающий участие в передаче сигнала внутрь клетки; CD4 и CD8 – корецепторы CD4 и CD8 Т-клеток соответственно, CD19 – корецептор В-клеток.

Костимулятор – белок клеточной поверхности антигенпрезентирующих клеток, выполняющий роль второго сигнала для антигенреактивных клеток; для Т-клеток костимулятором является В7, для В-клеток – лиганд CD40.

Костный мозг – гемопоэтическая ткань трубчатых костей, где развиваются клетки крови: эритроциты, моноциты, полиморфноядерные лейкоциты, тромбоциты; центральный «орган» иммунитета как основное место дифференцировки В-клеток у млекопитающих, а также источник родоначальных Т-клеточных элементов, мигрирующих в тимус.

Ксеноантигены – антигены клеток и тканей, отличающиеся от иммунизируемого реципиента на видовом уровне, как правило, в рамках одного отряда или класса животных.

Ксенотрансплантация – пересадка органов или тканей между особями, относящимися к разным видам.

Купфферовские клетки – фагоциты, локализованные в синусоидах печени (тканевые макрофаги печени); удаляют дебриз и мертвые клетки из кровотока; их участие в инициации иммунного ответа не установлено.

Лейкемия – неограниченная пролиферация злокачественных белых клеток крови; может быть лимфоцитарной, миелоцитарной, моноцитарной.

Лейкотриены – продукты метаболизма арахидоновой кислоты; относятся к основным факторам аллергических реакций; обусловливают спазм гладкой мускулатуры, обладают хемотаксической активностью.

Лейкоцитоз – увеличение количества лейкоцитов в крови; обычно наблюдается при инфекционном процессе.

Лейкоциты – общее обозначение белых клеток крови, включающих лимфоциты, полиморфноядерные клетки, моноциты.

Лектины – белки, взаимодействующие с определенными углеводными группами, в частности, бактериальных клеток; принимают участие в неспецифическом иммунитете, клеточной адгезии.

Лиганд – субстанция, взаимодействующая с рецепторами клеток или свободными молекулами; примером лиганд-рецепторных взаимодействий могут служить отношения между антигеном в качестве лиганда и специфическим иммуноглобулином.

Лизис иммунный – разрушение (некроз) клеток путем повреждения их мембраны посредством антител и комплемента или клеточный лизис при участии Т-киллеров и НК-клеток.

Лизоцим – гидролитический фермент секретов слизи; способен разрушать пептидогликановый слой клеточной стенки бактерий; фактор неспецифической иммунной защиты.

Лимфа – межтканевая жидкость, поступающая в регионарные лимфатические узлы (афферентная лимфа) и вытекающая из них вместе с покидающими орган клетками (эфферентная лимфа); участвует в доставке антигена из тканей в лимфатические узлы и в рециркуляции лимфоцитов.

Лимфатические сосуды – тонкостенные, содержащие лимфу сосуды, разветвленные по всему организму; внеклеточная жидкость и лимфоциты, которые накапливаются в тканях, собираются в лимфатических сосудах и, проходя через лимфатические узлы, поступают в основной лимфатический сосуд – грудной проток.

Лимфатические узлы – вторичные лимфоидные органы, широко распространенные по телу в местах соединения нескольких лимфатических сосудов; место индукции и развития адаптивного иммунитета, где встречаются антиген и антигенраспознающие лимфоциты.

Лимфобласт – лимфоцит с увеличенным количеством цитоплазмы, высоким уровнем РНК и активным белковым синтезом; лимфобласты образуются на определенных этапах дифференцировки лимфоцитов при их активации антигеном или митогеном.

Лимфокинактивированные киллеры (ЛАК-клетки) – натуральные киллеры, активированные цитокинами и в первую очередь интерлейкином-2.

Лимфокины – цитокины, продуцируемые лимфоцитами; участвуют в процессах размножения и дифференцировки клеток, переключения синтеза изотипов иммуноглобулинов, регуляции иммунного ответа.

Лимфома – злокачественное перерождение лимфоцитов, размножающихся в лимфоидной ткани и не проникающих в кровь.

Лимфомиелоидный комплекс – система органов и тканей, основная функция которых обеспечение гемо(миело)- и лимфопоэза; в состав комплекса входят: костный мозг, тимус, селезенка, лимфоидные образования пищеварительного тракта, соединительная ткань; органы и ткани комплекса объединены сетью кровеносных и лимфатических сосудов, обеспечивающих межорганный обмен клеточными элементами.

Лимфопоэз – процесс дифференцировки лимфоцитов от стволовых кроветворных клеток.

Лимфопролиферативные заболевания – группа злокачественных новообразований, характеризующихся малигнизацией и неконтролируемым размножением лимфоцитов.

Лимфоциты – округлые клетки со слаборазвитой цитоплазмой; основные клеточные участники специфического иммунного ответа.

Лимфоциты В (В-клетки) – один из двух классов лимфоцитов; клеточные элементы В-системы иммунитета, осуществляющей гуморальную форму иммунного ответа; основной признак В-клеток – наличие поверхностного антигенраспознающего иммуноглобулинового рецептора (sIg); при антигенной активации В-клетки дифференцируются в плазмациты, продуцирующие антитела той специфичности, которой обладал антигенраспознающий рецептор.

Лимфоциты Т (Т-клетки) – один из классов лимфоцитов, в становлении которого ведущая роль принадлежит тимусу; главные участники Т-системы иммунитета, осуществляющей клеточную форму иммунной защиты; основной признак Т-клеток – наличие Т-клеточного антигенраспознающего гетеродимерного рецептора (TCR), ассоциированного с однодоменными С3-белками.

Макрофаги – большие мононуклеарные клетки, широко представлены в тканях организма; производные костномозговых предшественников; играют критическую роль в развитии иммунитета; в неспецифическом врожденном иммунитете выполняют роль фагоцитирующих клеток с киллерной активностью, а также основных участников воспалительной реакции; кроме того, активированные макрофаги способны уничтожать некоторые формы опухолевых клеток; в специфическом адаптивном иммунитете выполняют роль антигенпрезентирующих клеток и продуцируют группу цитокинов (монокинов) – эндогенных регуляторов иммунного ответа.

Медулла (медуллярная зона, мозговое вещество) – центральная часть лимфоидных образований; место концентрации прошедших дифференцировку лимфоцитов.

Межклеточные адгезивные молекулы (ICAMs) – адгезивные молекулы клеточной поверхности, выполняющие роль лигандов для интегринов; играют критическую роль во взаимодействии лимфоцитов с антигенпрезентирующими и эндотелиальными клетками; включены в состав суперсемейства иммуноглобулинов.

Миастения гравис – аутоиммунное заболевание, вызванное аутоантителами к ацетилхолиновому рецептору на клетках скелетной мускулатуры; в результате аутоиммунной атаки развивается нарушение мышечного сокращения.

Миеломные белки – иммуноглобулины, продуцируемые злокачественными (миеломными) плазматическими клетками; поскольку миеломные клетки конкретного индивидуума представляют собой клон, продуцируемые ими иммуноглобулины относятся к категории моноклональных иммуноглобулинов.

Микроокружение – комплекс факторов, окружающих те или иные специализированные клетки в органах (например, кроветворные в костном мозге, лимфоциты в лимфатических узлах), важных для полноценного функционирования этих клеток; в состав микроокружения входят стромальные клеточные элементы, выполняющие механическую роль и служащие источником контактных сигналов, их гуморальные продукты, межклеточный матрикс.

Миндалины – лимфоэпителиальные образования в глоточной и нёбной областях; относятся к периферическим лимфоидным структурам; участвуют в реакциях на микробную инвазию в верхнем отделе пищеварительного и дыхательного трактов.

Митогены – белки (лектины, бактериальные продукты и др.), способные неспецифически активировать лимфоциты и вызывать их пролиферацию (митогенез).

Молекулярная иммунология – раздел иммунологии, занятый изучением молекулярных механизмов иммунной защиты; основными объектами изучения молекулярной иммунологии являются: антитела (иммуноглобулины), антигенраспознающие рецепторы, молекулы главного комплекса гистосовместимости, цитокины, адгезины.

Монокины – цитокины, секретируемые макрофагами; эндогенные регуляторы как неспецифического, так и специфического иммунного ответа.

Моноклональные антитела – антитела, продуцируемые одним клоном В-клеток и обладающие специфичностью к конкретному эпитопу, взаимодействие с которым характеризуется высокой аффинностью.

Монофилия – в молекулярной и клеточной биологии филогенетическое происхождение группы близких белков или классов клеток от общего эволюционно возникшего молекулярного или клеточного предшественника.

Моноциты – клетки крови с характерным бобовидным ядром; предшественники тканевых макрофагов.

Мутации – наследуемые изменения генетического аппарата, приводящие к модификациям тех или иных признаков организма; подразделяют на генные, хромосом-

ные и геномные в зависимости от структурного уровня носителей генетической информации.

Наивные лимфоциты – лимфоциты, прошедшие доантигенный путь развития, но не контактировавшие с антигеном; встреча с антигеном обеспечивает их дальнейшее постантигенное развитие с формированием функционально активных эффекторных клеток.

Натуральные киллеры (NK) – лимфоцитоподобные клетки, лишенные признаков Т- или В-клеток; способны к уничтожению некоторых опухолевых и вирусинфицированных клеток; являются важным фактором неспецифического (врожденного) иммунитета.

Нейтрализация – в иммунологии процесс инактивации антигенов (токсинов, вирусов) специфическими антителами.

Некроз – лизис клеток или тканей в результате химического или физического повреждения, что отличает эту форму гибели клеток от апоптоза как биологически запрограммированной клеточной смерти; накапливающийся при некрозе клеточный дебриз поглощается фагоцитами.

Носители – в иммунологии достаточно высокомолекулярные белки, с которыми ковалентно связываются неиммуногенные антигены (гаптены); такой комплекс с носителем провоцирует специфический ответ на гаптены; спонтанное ковалентное взаимодействие может происходить in vivo при приеме некоторых лекарств, которые образуют ковалентное взаимодействие с собственными белками пациента, что может быть причиной лекарственной аллергии.

Опсонизация – процесс изменения клеточной поверхности патогена или других частиц в результате их взаимодействия с внеклеточными молекулами, что приводит к активному захвату опсонизированных клеток фагоцитами; специфические антитела и комплемент – активные факторы опсонизации патогенов.

Опухолевые антигены – чужеродные для данного организма антигены, возникающие на злокачественно трансформированных клетках в результате действия канцерогенных соединений, инициирования клеток онкогенными вирусами, точечных мутаций генов, контролирующих поверхностные клеточные белки; к категории этих антигенов относятся также стадиоспецифические эмбриональные антигены, не экспрессирующиеся во взрослом состоянии, но проявляющиеся при раковом поражении.

Отрицательная селекция – удаление из популяции прошедших положительный отбор тимоцитов тех клеток, которые распознают собственные (аутологичные, не-МНС) антигены; аналогичный процесс селекции В-клеток происходит в костном мозге.

Отторжение трансплантата – разрушение тканевого или органного трансплантата иммунокомпетентными клетками генетически отличающегося реципиента; основными клеточными эффекторами являются цитотоксические CD8 Т-клетки и CD4 Т-клетки воспаления.

Пейеровы бляшки – локальное тканевое скопление лимфоцитов вдоль тонкого кишечника.

Первичный фолликул – гистологически выявляемые структуры лимфоидной ткани, составленные из покоящихся В-лимфоцитов и дендритных клеток; первичные фолликулы являются местом формирования центров размножения (вторичных фолликулов) при антигенной стимуляции.

Перфорин – белок, продуцируемый цитотоксическими Т-клетками и натуральными киллерами; сохраняется в их гранулах до контакта с клетками-мишенями: на клетках-мишенях полимеризуется, образуя поры, которые разрушают клеточные мишени.

Пиноцитоз – поглощение и внутриклеточное разрушение макромолекулярных соединений (белков, полинуклеотидов, полисахаридов, вирусных частиц и др.) клетками, способными к эндоцитозу.

Плазмацит – клетка, продуцирующая антитела; заключительная клеточная форма в В-клеточной линии дифференцировки.

Поверхностный иммуноглобулин *см.* антигенраспознающий В-клеточный рецептор.

Полигения – наличие нескольких неаллельных, обычно близко сцепленных генов, белковые продукты которых выполняют сходные функции.

Поликлональная активация – активация лимфоцитов митогенами.

Полиморфизм – наличие у вида нескольких аллельных форм одного и того же гена.

Положительная селекция – сохранение только тех дифференцирующихся в тимусе клеток, которые способны распознать собственные антигены гистосовместимости (молекулы I или II классов МНС), что обеспечивает их дальнейшее развитие; тимоциты, неспособные к подобному распознаванию, погибают in situ.

Презентация антигена – процесс выведения антигена на поверхность антигенпрезентирующей клетки (макрофаги, дендритные клетки, В-клетки) в иммуногенной форме; связан с внутриклеточным разрушением антигена до олигопептидов и образованием комплекса таких олигопептидов с молекулами I или II классов МНС, который экспрессируется на клеточной поверхности.

Примирование – активация наивных Т-клеток при первичной встрече с антигеном; понятие введено с тем, чтобы отличить первичное взаимодействие с антигеном от взаимодействия зрелых эффекторов с тем же антигеном.

Пропердин (фактор Р) – положительный регуляторный компонент альтернативного пути активации комплемента; выступает в качестве стабилизатора С3/С5-конвертазы на поверхности бактериальной клетки.

Процессинг антигена – внутриклеточное разрушение белков до отдельных олигопептидов, которые связываются с молекулами главного комплекса гистосовместимости, чтобы предстать в иммуногенной форме для распознавания Т-клетками.

Реакция Артюса – кожная реакция, при которой антиген, введенный внутрикожно, реагирует со специфическими антителами IgG во внеклеточном пространстве; в результате взаимодействия антигена с антителом активируется комплемент и усиливается миграция фагоцитирующих клеток в место введения антигена, что приводит к развитию локальной воспалительной реакции.

Реакция в смешанной культуре лимфоцитов (СКЛ) – пролиферативный ответ Т-клеток на аллоантигены главного комплекса гистосовместимоти в культуре, содержашей клетки двух генетически отличающихся индивидуумов или клетки мышей двух разных линий.

Реакция трансплантат против хозяина (РТПХ) – реакция Т-клеток донора на аллоантигены генетически чужеродного и иммунологически инертного реципиента; в клинике наблюдается при трансплантации больным клеток костного мозга от МНС-несовместимого донора.

Ревматоидный артрит – общее воспалительное заболевание, которое, возможно, связано с аутоиммунным ответом; заболевание сопровождается образованием ревматоидного фактора (анти-IgG антител, относящихся к классу IgM).

Резус-конфликт – ситуация, развивающаяся в результате несовместимости между организмом матери и плода по Rh-антигенам; Rh-отрицательная мать в процессе беременности продуцирует антитела к эритроцитам Rh-положительного плода, что приводит к развитию гемолитической болезни новорожденных или даже к выкидышам.

Рекомбиназы – ферменты, принимающие участие в реорганизации V-генов иммуноглобулинов и Т-клеточных рецепторов; их синтез контролируется генами RAG-1 и RAG-2.

Рекомбинантные линии – линии животных, отличающиеся друг от друга только по некоторой части аллельного локуса, вплоть до одного гена; в иммунологии – рекомбинантные линии мышей, отличающиеся друг от друга по некоторым генам или даже по одному гену главного комплекса гистосовместимости.

Репертуар антител – общее количество вариантов антител, которые потенциально может продуцировать индивидуум; для млекопитающих количество вариантов антител составляет предполагаемую величину более 10^9.

Рецепторы для антигенов – поверхностные белковые структуры, специфически взаимодействующие с антигенными детерминантами (эпитопами); у Т-клеток такой рецептор представляет собой либо αβ-, либо γδ-гетеродимеры, образующие комплекс с однодоменными белками CD3; у В-клеток – это поверхностные иммуноглобулины (sIg), находящиеся в комплексе с однодоменными белками CD79.

Реципиент – в трансплантологии и экспериментальной клеточной иммунологии организм, воспринимающий ткани или клетки от другого организма (донора).

Селезенка – орган лимфомиелоидного комплекса, представлен красной пульпой – местом удаления отмирающих клеток крови (в основном стареющих эритроцитов), и белой пульпой, включающей лимфоциты, которые отвечают на антиген, поступающий сюда с током крови.

Селектины – семейство адгезивных молекул клеточной поверхности лейкоцитов и эндотелиальных клеток, принимающих участие в перемещении наивных лимфоцитов в лимфоидные органы.

Селекция клонов лимфоцитов – процесс отбора клонов лимфоидных клеток, способных взаимодействовать с собственными молекулами главного комплекса гистосовместимости (положительная селекция, проходящая в тимусе), и удаление клонов, реагирующих с собственными антигенами (аутоантигенами) (отрицательная селекция, проходящая в тимусе для Т-клеток или в костном мозге для В-клеток).

Сингенная трансплантация – пересадка органов или тканей между генетически идентичными особями одного вида (однояйцовые близнецы, особи одной и той же инбредной линии).

Синдром Гудпастера – аутоиммунное заболевание, вызванное аутоантителами к IV типу коллагена; в результате аутоиммунной атаки развивается острый васкулит, приводящий к летальному исходу.

Синдром обнаженных лимфоцитов – иммунодефицитное состояние, при котором молекулы II класса главного комплекса гистосовместимости не экспрессируются на клетках; пациенты с данной формой иммунодефицита имеют незначительное количество CD4 Т-клеток.

Синдром приобретенного иммунодефицита (СПИД) – острое инфекционное заболевание, вызываемое вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ) и сопровождающееся резким снижением содержания CD4 Т-клеток.

Синдром DiGeorge – иммунодефицитное состояние, контролируемое рецессивным геном; характеризуется аплазией тимуса, отсутствием Т-клеток.

Синдром Wiskott–Aldrich – иммунодефицитное состояние, характеризующееся дефектом в продукции антител к полисахаридам; пациенты с данной формой иммунодефицита чувствительны к инфекциям, вызываемым пиогенными бактериями.

Синтетические антигены – искусственно синтезированные полимеры аминокислот, углеводов.

Системная красная волчанка – классический пример системного аутоиммунного заболевания, при котором продуцируются антитела к ДНК, РНК и гистонам; образующиеся иммунные комплексы повреждают малые кровеносные сосуды.

Соматическая рекомбинация – изменение расположения генов в геноме клетки в процессе митоза; по отношению к генам иммуноглобулинов (генных сегментов, контролирующих V-домены) – это перегруппировка и слияние генов; образовавшийся локус не наследуется и является свойством только данного клона лимфоидных клеток.

Стволовая кроветворная клетка (СКК) – общий предшественник для всех ростков дифференцировки лимфомиелопоэза, локализованный у взрослых в костном мозге.

Строма тимуса – эпителиальные и соединительнотканные клетки органа, формирующие микроокружение, необходимое для дифференцировки Т-клеток; гистологически строма напоминает сеть, в ячейках которой расположены тимоциты.

Сумка Фабрициуса – лимфоэпителиальный орган, расположенный у птиц в клоаке; место активной генерации В-клеток; возможный аналог костного мозга млекопитающих как основного источника созревающих В-клеток.

Суперсемейство иммуноглобулинов – группа близкородственных белков, эволюционно возникших от общих предшественников – однодоменных беков: Thy-1, β_2-микроглобулин, P_0; критериями для включения белков в суперсемейство служат гомология их аминокислотной последовательности с иммуноглобулинами и характер доменной организации; в состав суперсемейства входят: иммуноглобулины, антигенраспознающие рецепторы В- и Т-клеток, молекулы I и II классов MHC, корецепторы CD8 и CD4, рецепторы к иммуноглобулинам, рецепторы к цитокинам и ростовым факторам, ряд адгезивных молекул, однодоменные белки, отмеченные выше.

Сцепленное распознавание – распознавание Т- и В-лимфоцитами своих эпитопов, которые физически находятся на одной и той же клетке или молекуле.

Тельца Гассаля – свободные от тимоцитов, округлые скопления эпителиальных клеток в медуллярной зоне тимуса.

Тимоциты – популяция дифференцирующихся лимфоцитов тимуса.

Тимоциты «двойные негативные» – субпопуляция незрелых, находящихся на ранней стадии внутритимусной дифференцировки клеток, у которых отсутствуют корецепторы CD4 и CD8.

Тимоциты «двойные позитивные» – субпопуляция тимоцитов, находящихся на промежуточной стадии внутритимусной дифференцировки клеток, у которых одновременно экспрессируются два корецептора CD4 и CD8.

Тимоциты «одинарные позитивные» – субпопуляция тимоцитов, находящихся на завершающей стадии внутритимусной дифференцировки, прошедших положительный отбор на способность реагировать с собственными молекулами I и II классов главного комплекса гистосовместимости; фенотип клеток: либо $CD4^+CD8^-$, либо $CD4^-CD8^+$.

Тимус – лимфоэпителиальный орган, расположенный у млекопитающих за грудиной по средней линии грудной клетки; место развития Т-клеток от костномозгового предшественника.

Тимусзависимые антигены – антигены, которые обеспечивают развитие иммунного ответа только при участии Т-клеток.

Тимуснезависимые антигены – антигены, которые способны инициировать развитие иммунного ответа без помощи со стороны Т-клеток; известны два типа тимуснезависимых антигенов; антигены типа I имеют в структуре участок с митогенной активностью, который заменяет собой второй сигнал, необходимый В-клеткам при инициации ответа; антигены типа II характеризуются наличием повторяющихся гомологичных эпитопов, которые активируют В-клетки в результате перекрестного сцепления антигенраспознающих рецепторов этих клеток.

Тимэктомия – хирургическое удаление тимуса.

Токсины бактериальные – продукты бактерий, оказывающие патогенное действие на инфицированный организм; эндотоксины связаны с микробной клеткой; экзотоксины выделяются в растворимой форме.

Толерантность иммунологическая – явление специфической иммунологической неотвечаемости; индуцируемая неотвечаемость к одному антигену не отменяет полноценного ответа к другим антигенам.

Толерогены – антигены клеток, белков, полисахаридов, вызывающие при определенных условиях введения в организм специфическую неотвечаемость.

Трансгены – чужеродные гены, встроенные в геном того или иного организма, что позволяет с максимальной точностью изучать функцию таких генов и их фенотипических продуктов.

Транслокация – перенос участка хромосомы, содержащей ген (или гены), в новое положение на той же или другой хромосоме.

Трансплантационные антигены – антигены клеточной поверхности, контролируемые главным комплексом гистосовместимости.

Трансплантационный иммунитет – явление иммунного отторжения трансплантируемой чужеродной ткани или органа; в реакции отторжения принимает участие главным образом Т-система иммунитета.

Трансфекция – включение участка чужеродной ДНК в геном клетки.

Трансцитозис – транспорт молекул через эпителиальные клетки; примером может служить транспорт IgA из крови в носовую полость, просвет кишечника и др.

Тучные клетки – крупные, с большим количеством гранул клетки, локализованные в соединительной ткани; особенно обильно представлены в подслизистой соединительной ткани; играют ключевую роль в развитии аллергических реакций благодаря наличию высокоаффинного рецептора к IgE; аллерген, который взаимодействует с IgE, представленным на поверхности клеток; инициирует выброс большого количества гистамина – ведущего фактора развития реакции немедленного типа.

Тяжелый комбинированный иммунодефицит, сцепленный с Х-хромосомой – заболевание, при котором нарушены самые ранние стадии внутритимусного развития Т-клеток; от-

сутствие Т-клеточного иммунитета, а также продукции антител к тимусзависимым антигенам; заболевание обусловлено дефектом в гене, контролирующем одну из полипептидных цепей рецепторов к некоторым цитокинам.

Филогенез – историческое развитие мира живых организмов; эволюционно установившиеся связи между различными таксономическими группами; филогенетические отношения возможно реконструировать и в отношении молекулярных и клеточных компонентов таксономически отличающихся организмов; в иммунологии изучают филогенез различных типов иммунологически значимых клеток и молекул.

Фагоцитоз – захват и внутриклеточное переваривание корпускулярного материала (бактерий, чужеродных и собственных отмирающих клеток, инертных частиц, таких как липосомы, китайская тушь и др.); основными клетками, способными к активному фагоцитозу, являются макрофаги, моноциты. нейтрофилы.

Фолликул Кларка – элементарная гистологическая единица коркового слоя тимуса; представляет собой плотное скопление тимоцитов, окруженное вытянутыми эпителиальными клетками.

Фолликулярные дендритные клетки – клетки лимфоидных фолликулов, образующих плотную сеть, заполненную В-клетками; длинные, ветвистые отростки позволяют им вступать в тесные интимные контакты с В-клетками; наличие Fc-рецептора обеспечивает длительное сохранение на поверхности клеток комплекса антиген–антитело; играют ключевую роль в антигензависимой дифференцировке В-клеток и отборе этих клеток на повышенную аффинность антигенраспознающих рецепторов.

Хелперные CD4 Т-клетки (T_H2) – субпопуляция Т-клеток, оказывающая помощь В-клеткам в продукции антител.

Хемокины – низкомолекулярные цитокины, принимающие участие в миграции и активации фагоцитирующих клеток и лимфоцитов; играют центральную роль в воспалительном ответе.

Центральные органы иммунитета – места основного развития В- и Т-клеток; определяющим местом для дифференцировки В-клеток является костный мозг, для Т-клеток – тимус.

Центробласты – крупные, быстро делящиеся клетки, находящиеся в центрах размножения и относящиеся к В-клеточной линии развития; предшественники плазмацитов и В-клеток памяти.

Центроциты – В-клетки центров размножения, прямые потомки центробластов; созревают до активно продуцирующих иммуноглобулины плазмацитов и В-клеток памяти или подвергаются апоптозу в зависимости от характера рецепторного взаимодействия с антигеном на поверхности фолликулярных дендритных клеток.

Цитокины – эндогенные белковые регуляторы, принимающие участие в регуляции иммунного ответа; цитокины, продуцируемые лимфоцитами, часто называют лим-

фокинами, моноцитами и макрофагами – мионокинами; адресное действие цитокинов обеспечивается наличием соответствующих цитокиновых рецепторов на клетках-мишенях.

Цитотоксины – белки, продуцируемые цитотоксическими Т-клетками и НК-клетками, которые разрушают клетки-мишени; основными цитотоксическими белками являются перфорины и гранзимы (фрагментины).

Цитотоксические Т-лимфоциты (ЦТЛ; CD8 Т-клетки) – клетки, способные убивать другие клетки, к антигенам которых они примированы; при специфическом клеточном иммунитете киллерным действием обладает главным образом субпопуляция зрелых CD8 Т-клеток; цитотоксическое действие этих клеток на клетки-мишени, экспрессирующие чужеродный антиген, рестриктировано по генам I класса МНС.

Эволюционная иммунология – раздел иммунологии, занятый изучением трех основных вопросов: 1) возникновение и филогенетическое развитие способности к специфическому иммунному распознаванию чужеродности; 2) возникновение и филогенетическое развитие лимфоцитов, основная функция которых иммунная; эволюционное становление Т- и В-систем иммунитета; 3) роль исторически развивающегося иммунитета в прогрессивной эволюции животных.

Эволюция (биологическая) – необратимый процесс исторического изменения живого, связанного с мутационными изменениями генотипов, наследуемости возникших изменений и отбор наиболее удачных сочетаний генов.

Экзон – кодирующая последовательность нуклеотидов в гене; большинство генов включает несколько экзонов, каждый из которых отделен от соседнего некодирующим участком (интроном).

Экспериментальный аллергический энцефаломиелит – воспалительное заболевание центральной нервной системы, развивающееся после активной иммунизации мышей антигенами нервной ткани.

Эндогенные пирогены – цитокины, повышающие температуру тела в условиях развития инфекции или острой воспалительной реакции; примером могут служить интерлейкин-1, интерлейкин-6.

Эндотоксины – бактериальные токсины, которые выделяются только при повреждении клетки в отличие от экзотоксинов, продуцируемых бактериальной клеткой во внешнюю среду в условиях нормы.

Эндоцитоз – реакция клеток, направленная на поглощение и переваривание растворимых, макромолекулярных соединений, а также чужеродных или структурно измененных собственных клеток; термин является обобщающим для двух близких, но тем не менее самостоятельных процессов – пиноцитоза и фагоцитоза.

Эпитоп (антигенная детерминанта) – участок антигена, распознаваемый антителами; эпитоп, ассоциированный с молекулами I или II классов, распознается Т-клеточным рецептором.

Эпитоп В-клеточный – часть молекулы антигена, соответствующая той пространственной организации, которая свойственна ей в нативном белке; антигенраспознающие рецепторы В-клеток и иммуноглобулины распознают нативную конформацию эпитопа, но не линейную последовательность аминокислотных остатков.

Эпитоп Т-клеточный – линейная последовательность аминокислотных остатков, составляющих часть антигена; не требует сохранения нативной конформации.

Якорные остатки – аминокислотные остатки линейного пептидного фрагмента антигена, которые образуют связь с аминокислотами в щели молекулы I класса главного комплекса гистосовместимости; таким образом формируется иммуноген – линейный пептид антигена с молекулой I класса, экспрессирующийся на поверхности клетки и доступный для распознавания цитотоксическими CD8 Т-лимфоцитами.

В-система иммунитета – система органов, клеток и эффекторных молекул, осуществляющих гуморальную форму иммунного реагирования; центральным (первичным) «органом» системы является костный мозг – основное место генерации В-лимфоцитов; клеточный состав системы включает В-клетки различной степени зрелости, вплоть до заключительной клеточной формы в гистогенезе этих клеток – плазмацита, активно синтезирующего и секретирующего специфические антитела; эффекторные молекулы системы представлены пятью классами иммуноглобулинов: IgM, IgG, IgA, IgE и IgD.

С-домен – составная часть константной области иммуноглобулинов и антигенраспознающих рецепторов; каждый домен включает более 100 аминокислотных остатков, замкнутых на себя дисульфидной (–S–S–) связью; С-домены не принимают участия в распознавании антигена, однако выполняют иные физиологические функции: связывание комплемента, взаимодействие с Fc-рецептором, прохождение через эндотелиальные барьеры.

CDR,s (complementarity determining regions) – регионы иммуноглобулиновых и Т-клеточных рецепторов, комплементарно взаимодействующих с антигеном и формирующих антигенсвязующий участок этих рецепторов; каждый регион конформационно представляет собой петлю, составленную из аминокислотных остатков гипервариабельного участка V-домена; у иммуноглобулинов антигенсвязующий участок строится из трех CDR V-домена легкой цепи и трех CDR V-домена тяжелой цепи; аналогично построен антигенраспознающий участок Т-клеточного рецептора и включает по три CDR от α- и β-цепей.

Е-розетки – микроскопически выявляемые конгломераты (грозди), образуемые взаимодействием Т-клеток человека с эритроцитами барана; используются для анализа количества Т-клеток, а также для выделения этих клеток с помощью градиентного центрифугирования.

Fab-фрагмент – фрагмент, образующийся в результате обработки IgG папаином; состоит из легкой цепи и N-концевой половины тяжелой цепи; включает V-домены, взаимодействующие с антигеном (Fab – от англ. fragment antigen binding).

Fc-фрагмент – фрагмент, образующийся в результате обработки IgG папаином; состоит из С-концевых половин тяжелых цепей иммуноглобулинов, соединенных между собой дисульфидными связями (Fc – от англ. fragment crystallizable).

Т-система иммунитета – система органов, клеток, эффекторных и регуляторных молекул, обеспечивающих клеточную форму иммунного реагирования; система включает тимус – место дифференцировки костномозговых предшественников Т-клеток (пре-Т-клеток), различные функционирующие субпопуляции собственно Т-клеток (хелперные CD4 Т-клетки, CD4 Т-клетки воспаления, цитотоксические и супрессорные CD8 Т-клетки), эффекторные, антигенраспознающие рецепторы, группу цитокинов, продуцируемых Т-клетками; основная функция связана с цитотоксическим разрушением генетически отличающихся клеток и тканей (чужеродных трансплантатов, опухолевых и вирустрансформированных клеток), а также с участием в регуляции клеточного и гуморального иммунного ответа.

ТАР-1,2 (транспортеры, участвующие в процессинге антигена) – белки, связанные с мембраной эндоплазматического ретикулума; основная их функция – перенос антигенного пептида из цитозоля во внутреннее пространство эндоплазматического ретикулума, где пептид соединяется с молекулами I класса главного комплекса гистосовместимости.

V-домен – вариабельная область тяжелых и легких цепей иммуноглобулинов и Т-клеточных рецепторов; включает около 100 аминокислотных остатков, замкнутых на себя дисульфидной (–S–S–) связью; при взаимодействии V-доменов тяжелой и легкой цепей иммуноглобулинов или V-доменов α- и β-цепей Т-клеточного рецептора формируется антигенраспознающий участок.

ИСПОЛЬЗОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

Баскаков А.В., Полевщиков А.В. и др. Изменение титров гемагглютининов и гемолизинов в гемолимфе брюхоногих моллюсков // Журн. эволюц. биохимии и физиологии. 2000. Т. 36. С. 210–213.

Баскаков А.В., Полевщиков А.В. и др. Оценка лигандной специфичности гемагглютининов и гемолизинов гемолимфы брюхоногих и двустворчатых моллюсков // Журн. эволюц. биохимии и физиологии. 2000. Т. 36. С. 281–285.

Беклемишев В.Н. Основы сравнительной анатомии беспозвоночных. М.: Изд-во АН СССР. 1964. Т. 1.

Бернет М.Ф. Целостность организма и иммунитет. М.: Мир, 1964.

Галактионов В.Г. Очерки эволюционной иммунологии. М.: Наука. 1995. 256 с.

Галактионов В.Г. Эволюционное развитие суперсемейства иммуноглобулинов // Изв. РАН. 2004. Т. 2. С. 3–13.

Галактионов В.Г. Иммунология. 3-е изд. М.: Академия. 2004. 523 с.

Тимофеев-Ресовский Н.В., Воронцов Н.Н., Яблоков А.В. Краткий очерк теории эволюции. М.: Наука, 1969.

Фонталин Л.Н. Происхождение антигенраспознающей иммунной системы позвоночных. I. Молекулярно-биологические и иммунологические аспекты // Иммунология. 1997. № 3. С. 3–14.

Adema C.M., Hertel L.A. et al. A family of fibrinogen-related protyeins that precipitates parasite-derived molecules // PNAS. 1997. Vol. 94. P. 8691–8696.

Adkison M.A.,Basurco B. et al. Humoral immunoglobulins of the white sturgeon // Develop. Comp. Immunol. 1996. Vol. 20. P. 285–298.

Agrawal A., Eastman Q.M. et al. Transposition mediated by RAG1 and RAG2 and its implications for the evolution of the immune system // Nature. 1998. Vol. 20. P. 744–751.

Amemiya Ch.T., Ohta Y. et al. VH gene organization in a relict species: Latimeria ch. // PNAS. 1993. Vol. 90. P. 6661–6665.

Andersson M., Boman A. et al. Ascaris nematodes from pig and human make three antibacterias peptides // Cell Mol. Life Sci. 2003. Vol. 60. P. 599–606.

Barclay A.N. Ig-like domains: Evolution from simple interaction molecules to sophisticated antigen recognition // PNAS. 1999. Vol. 96. P. 14672–14674.

Bateman A., Eddy S.R. et al. Members of the immunoglobulin superfamily in bacteria // Protein Sci. 1996. Vol. 5. P. 1939–1941.

Benian G.M., Kiff J.E. et al. Sequence of an unusually large protein implicated in regulation of myosin activity // Nature. 1989. Vol. 342. P. 45–50.

Berstein R.M., Schluter S.F. et al. Primordial emergence of the recombination activating gene 1 (RAG1): shark and microbial // PNAS. 1996. Vol. 93. P. 9454–9459.

Blumbach B., Diehl-Seifert B. Cloning and expression of new receptyors from the marine sponge G. cydonium // Immunogenetics. 1999. Vol. 49. P. 751–763.

Blumbach B., Seack B. et al. Cloning and expression receptors belonging to the IgSF from the marine sponge G. cydonium // Ibid. 1999. Vol. 49. P. 751–763.

Bork P., Holm I. et al. The immunoglobulin fold. Structurel classification // J. Mol. Biol. 1994. Vol. 30. P. 309–320.

Brossay L., Chioda M. et al. C D1d-mediated recognition of alpha-gal. By natural killer T cells // J. Exp. Med. 1998. Vol. 188. P. 1521–1528.

Carry C., Cohen N., Rollins-Smith L. Amphibian declines: immunological perspective // Develop. Comp. Immunol. 1999. Vol. 233. P. 459–472.

Chretien I., Marcuz A. et al. CTX, a Xenopus thymocyte receptor, defines a molecvular family conserved throughout vertebrates // Europ. J. Immunol. 1998. Vol. 28. P. 4094–4104.

Chretien I., Robert J. CTX, novel molecule in Xenopus // Ibid. 1996. Vol. 26. P. 780–791.

Du Pasquier L., Flajnik M. Origin and evolution of the vertebrate immune system // Fundamental Immunology / Ed. W. Paul. LW&W. 1997.

Du Pasquier L., Courtet M. et al. Duplication and MHC linkage of the CTX family // Europ. J. Immunol. 1999. Vol. 29. P. 1729–1739.

Gamulin V., Rinkevich B. et al. Cell adhesion receptors and highiy conserved from the lowest metazoa (marine spongies) to vertebrates // Biol. Chem. Hoppe seyler. 1994. Vol. 375. P. 583–588.

Garcia K.Ch., Teyton L. et al. Structural basis of cell recognition // Ann. Rev. Immunol. 1999. Vol. 17. P. 369–397.

Greenberg A.S., Hughes A.L. et al. A novel "chimeric" antibody class in cartilagious fish: IgM may not be // Eur. J. Immunol. 1996. Vol. 26. P. 1123–1129.

Gross P.S., Al-Sharif W.Z. et al. Echinoderm immunity and evolution of the complement system. – Develop. Comp. Immunol. 1999. Vol. 23. P. 429–442.

Harpaz Y., Chothia C. Many of the immunoglobulin superfamily domains in cell adhesion molecules and surface receptors belong to a new structural set // J. Mol. Biol. 1994. P. 528–539.

Hawke N.A., Rast J.P. et al. Extensive diversity of transcribed TCR-β in a phylogenetically primitive vertebrate // J. Immunol. 1996. Vol. 156. P. 1–7.

Heath J., White S.J. et al. The human A33 antigen // PNAS. 1997. Vol. 94. P. 469–474.

Hiom K., Melek M. et al. DNA transposition by the RAG1 and RAG2 // Cell. 1998. Vol. 94. P. 463–470.

Hoek R.M., Smit A.B. et al. A new Ig-superfamily member, molluscan defence molecule (MDM). – Europ. J. Immunol. 1996. Vol. 26. P. 939–944.

Hoffman J.A., Kafatos F.C. et al. Phylogenetic perspective in innate immunity // Science. 1999. Vol. 284. P. 1313–1318.

Hoffmann J.A., Reichhart J.-M. Drosophila innate immunity: an evolutionry perspective // Nature Immunol. 2002. Vol. 3. P. 121–126.

Holmgren A., Kuehn M.J. et al. Conserved immunoglobulin-like features in a family of periplasmic pilus chasperones in bacteria // EMBO J. 1992. Vol. 11. P. 1617–1622.

Hordvik I., Thevarajan J. et al. Molecular cloning and phylogenetic analysis of the Atlantic salmon IgD // Scand. J. Immunol. 1999. Vol. 50. P. 202–210.

Izutsu Y., Tochinai S. et al. Larval antigen molecules recognized by adult immune cells of inbred Xenopus laevis // Develop. Biol. 2000. Vol. 221. P. 365–374.

Jain D., Swaminathan G.J. et al. Structure of the induced antibacterialprotein from tasar silkworm, Antheraea mylitta // J. Biol. Chem. 2001. Vol. 276. P. 1377–1382.

Ji Y., Dersavines S. et al. Junctional diversity in Xenopus immunoglobulin light chains // Mol. Immunol. 1999. Vol. 36. P. 1159–1168.

Johansson M.W. Cell adhesion molecules in invertebrate immunity // Develop. Comp. Immunol. 1999. Vol. 23. P. 303–315.

Jorgensen T.O., Solem S.T. et al. The antibody site in Atlantic salmon // Ibid. 2002. Vol. 26. P. 201–206.

Karlstrom R.O., Wilder L.P. et al. Lachesin: an immunoglobulin superfamily protein // Development. 1993. Vol. 118. P. 509–522.

Kimbrell D.A., Beutler B. The evolution and genetics of innate immunity // Nature Rev. Genetics. 2001. Vol. 2. P. 256–267.

Klein J. In immunological twilight zone // PNAS. 1998. Vol. 95. P. 11504–11509.

Kruse M., Steffen R. et al. Differential expression allograft inflammatory factor 1 during auto- and allograft in marine spongies // J. Cell Sci. 1999. Vol. 112. P. 4305–4313.

Kubagawa H., Burrows P.D. et al. A novel pair of immunoglobulin-like receptors expressed by B cells // PNAS. 1997. Vol. 94. P. 5261–5266.

Laird D.J., De Tomaso A.W. et al. 50 million yeard chordate evolution. Adaptive immunity // Ibid. 2000. Vol. 97. P. 6924–6926.

Lanier L.L. NK cell receptors // Annu. Rev. Immunol. 1998. Vol. 16. P. 359–393.

Leclerc M. Human kappa-like expression in axial organ of the sea star Asterias rubens // Europ. J. Morphol. 2000. Vol. 38. P. 206–207.

Leclerc M., Arneodo V.J. et al. Identification of T-like and B-like lymphocyte subsets in sea star // Thymus. 1993. Vol. 21. P. 133–139.

Legac E., Vaugier G.L. et al. Primitive cytokines in invertebrates // Scand. J. Immunol. 1996. Vol. 44. P. 375–380.

Leippe M. Antimicrobial and cytolitic polypeptides of amoeboid protozoa – effector molecules of primitive phagocytes // Develop. Comp. Immunol. 1999. Vol. 23. P. 267–279.

Lee S.S., Fitch D. et al. Rearrangement of immunoglobulin genes in shark germ cells // J. Exp. Med. 2000. Vol. 191. P. 1637–1647.

Lin W., Zhang H., Beck G. Phylogeny of natural cytotoxicity: cytotoxic activity of coelomocytes of the purple sea urchin, Arbacia punctulata // J. Exp. Zool. 2001. Vol. 290. P. 741–750.

Litman G.W., Anderson M.K. et al. Evolution of antigen binding receptors // Ann. Rev. Immunbol. 1999. Vol. 17. P. 109–147.

Marchalonis J.J., Schluter S.F. et al. Antibodies of sharks: revolution and evolution // Immunol. Rev. 1998. Vol. 166. P. 103–122.

Matsuura A., Kinebuchi M. et al. NKT cells in the rat: distribution of distinct V alpha 14 chains // J. Immunol. 2000. Vol. 164. P. 3140–3148.

Moretta L., Bottino C. et al. Human natural killer cells // Eur. J. Immunol. 2002. Vol. 32. P. 1205–1211.

Muller W.E.G. Review: How was metazoan threshold crossed? The hypothetical Urmetazoa // Comp. Biochem. and Physiol. 2001. Vol. 129. P. 433–460.

Muller W.E.G., Blumbach B. et al. Evolution of innate and adaptive immune systems // Transplantation. 1999. Vol. 68. P. 1215–1227.

Muller W.E., Koziol C. et al. Towards an understanding of the molecular basis of immune responses in sponges // Microsc. Res. Tech. 1999. Vol. 44. P. 219–236.

Muller W.E., Krasko A. et al. Histocompatibility reaction in tissue and cells of the marine sponge Suberites domuncula in vitro and in vivo: central role of the allograft inflammatory factor 1 // Immunogenetics. 2002. Vol. 54. P. 48–58.

Muller W.E.G., Kruse M. et al. Gene structure and function of tyrosine kinases in the marine sponge *Geodia cydonium* // Gene. 1999. Vol. 238. P. 179–193.

Muller W.E.G., Schroder H.C. et al. Contribution of sponge gene to unravel the genom of the hypothetical ancestor of Metazoa (Urmetazoa) // Ibid. 2001. Vol. 276. P. 161–173.

Muller W.E., Skorokhod A. et al. Receptor tyrosin kinase, autapomorphic character of metazoa // Acta Biol. Hung. 1999. Vol. 50. P. 395–411.

Nelson R.E., Fessler L.I. et al. Peroxidasin: a novel enzyme-matrix protein // EMBO J. 1994. Vol. 13. P. 3438–3447.

Nonako M., Azuni K. et al. Opsonin complement component C3 in the solitary ascidian, Halocynthia roretzi // J. Immunol. 1999. Vol. 162. P. 387–391.

Ottaviani E., Franchini A. et al. Prewsence of several cytokine-like molecul in molluscan // Biochem. and Biophys. Res. Commun. 1993. Vol. 195. P. 984–988.

Panser Z., Kruse M. et al. Polymorphism in the immunoglobulin-like domains from sponge Geodia cydonium // Cell Adges. Commun. 1996. Vol. 4. P. 327–339.

Pancer Z., Rast J. et. al. Origins of immunity: transcription factors and homologues of effector genes of vertebrate in sea urchin coelomocytes // Immunogenetics. 1999. Vol. 49. P. 773–786.

Pancer Z., Skorokhod A. et al. Multiple Ig-like featuring genes divergent within and among individuals of the marine sponge Geodia cydonium // Gene. 1998. Vol. 207. P. 227–233.

Passer B.J., Chen C.H. et al. Identification of a T lineage in the catfish // Develop. Comp. Immunol. 1996. Vol. 20. P. 441–450.

Peddie C.M., Smith V.J. In vitro spontaneous cytotoxic activity against mammalian target cells by the hemocytes of the solitery ascidian // J. Exp. Zool. 1993. Vol. 267. P. 616–623.

Pulido D., Campuzano S. et al. Dtrk, Drosophila gene related to the family // EMBO J. 1992. Vol. 11. P. 391–404.

Raftos D.A., Hutchinson A. Cytotoxicity reactions in the solitary tunicate Styela plicata // Develop. Comp. Immunol. 1995. Vol. 19. P. 463–471.

Ramsland P.A., Kaushik A., Marchalonis J.J. et al. Incorporation of long CDR3s into V domains // Exp. Clin. Immunogenet. 2001. Vol. 18. P. 176–198.

Rast J.P., Anderson M.K. et al. Alpha, beta, gamma, and delta T cell antigen receptor genes arose early in vertebrate phylogeny // Immunity. 1997. Vol. 6. P. 1–11.

Rast J.P., Haire R.N. et al. Identification and characterization of T-cell antigen receptor-related genes in phylogenetically diverse vertebrate species // Immunogenetics. 1995. Vol. 42. P. 204–212.

Rast J.P., Litman G.W. T-cell receptor gene homologs are present in the most primitive jawed vertebrates // PNAS. 1994. Vol. 91. P. 9248–9252.

Rast J.P., Litman G.W. Towards understanding the evolutionary orogins and early diversification of rearranging antigen receptors // Immunol. Rev. 1998. Vol. 166. P. 79–86.

Ratcliffe N.A., Rowley A.F. et al. Immunity of the invertabrates // Intern. Rev. Cyt. 1985. Vol. 97. P. 183–350.

Rau L., Cohen N. et al. MHC-restricted and -unrestricted CD8 T cell: an evolutionary perspective // Transplantation. 2001. Vol. 72. P. 1830–1835.

Robert J., Cohen N. Ontogeny of CTX expression in Xenopus // Develop. Comp. Immunol. 1998. Vol. 22. P. 605–612.

Robert J., Chretien I. et al. Cross-linking CTL, a novel thymocyte-specific molecule // Mol. Immunol. 1997. Vol. 34. P. 133–143.

Robert J., Sung M. et al. In vitro thymocyte differentiation in Xenopus // Develop. Comp. Immunol. 2001. Vol. 25. P. 323–336.

Romano N., Taverue-Thiele A.J. et al. Ontogeny of the thymus in teleost fish // Ibid. 1999. Vol. 23. P. 123–137.

Rombout J.H., van de Wal J.W. et al. Characterization of a T lineage in carp // Ibid. 1997. Vol. 21. P. 35–46.

Roux K.H., Greenberg A.S. et al. Structural analysis of the nurse shark (new) antigen receptor // PNAS. 1998. Vol. 95. P. 11804–11809.

Sahu A., Lambris J.D. Structure and biology of complement protein C3, a link between innate and acquired immunity // Immunol. Rev. 2001. Vol. 180. P. 35–48.

Scapigliati G., Buonocore F. et al. Phylogeny of cytokines // Fish Shellfish Immunol. 2001. Vol. 11. P. 711–726.

Schacke H., Rinkevich B. et al. Immunoglobulin-like domain is present in the extracellular part of the receptortyrosine kinase from sponge // J. Mol. Recognit. 1994. Vol. 7. P. 273–276.

Schutze J., Skorokhod A. et al. Molecular evolution of the metazoan extracellular matrix // J. Mol. Evol. 2001. Vol. 53. P. 402–415.

Seeger M.A., Haffiey L. et al. Characterization of amalgam from Drosophila // Cell. 1988. Vol. 55. P. 589–600.

Shintani S., Terzic J. et al. Do lampreys have lymphocytes? The Spi evidence // PNAS. 2000. Vol. 97. P. 7417–7422.

Six A., Rast J.P. et al. Characterization of avian T-cell receptor γ genes // PNAS. 2000. Vol. 93. P. 15329–15334.

Skorokhod A., Schacke H. et al. Immunochemical localization of the phylogenetically oldest receptor tyrosine kinase // Cell. Mol. Biol. 1997. Vol. 43. P. 509–519.

Smith L.C., Clow L.A., Terwilliger D.P. The ancestrel complement system in sea urchins // Immunol. Rev. 2001. Vol. 180. P. 16–34.

Solem S.T., Hordvik I. et al. Diyersity of the immunoglobulin heavy chain in the Atlantic salmon (Salmo salar) // Develop. Comp. Immunol. 2001. Vol. 25. P. 403–417.

Strong S.J., Mueller M.G. et al. A novel multigene family // PNAS. 1999. Vol. 96. P. 15080–15085.

Su C., Nguen V.K. et al. Adaptive evolution of variable region genes encoding an unusual type of immunoglobulin in camelids // Mol. Biol. Evol. 2002. Vol. 19. P. 205–215.

Sun S.C., Lindstrom I. et al. Hemolin: an insect-immune protein belonging to the IgSF // Science. 1990. Vol. 250. P. 1729–1732.

Suzuki M.M., Cooper E.L. Spontaneous cytotoxic earthworm leukocytes kill K562 tumor cells // Zoolog. Sci. 1995. Vol. 12. P. 443–451.

Turpen J.B. Induction and early development of the hematopoietic and immune systems in Xenopus // Develop. Comp. Immunol. 1998. Vol. 22. P. 265–278.

Underhill D.M., Ozinsky A. et al. Toll-like receptor-2 mycobacteria-induced proinflammatory signaling in macrophages // PNAS. 1999. Vol. 96. P. 14459–14463.

Vilches C., Parham P. KIR: diverse, rapidly, evolving receptors of innate and adaptive immunity // Annu. Rev. Immunol. 2002. Vol. 20. P. 217–251.

Wang P.L., O'Farrell S. Identification and molecular cloning of tactile // J. Immunology. 1992. Vol. 148. P. 2600–2608.

Williams A.F., Barclay A.N. The immunoglobulin superfamily – domains for cell surface recognition // Annu. Rev. Immunol. 1988. Vol. 6. P. 381–404.

Wilson M., Bengten E. et al. A novel chimeric Ig heavy chain from a teleost fish shares similarities to IgD // PNAS. 1997. Vol. 29. P. 4593–4597.

Wimmer W., Blumbach B. et al. Increased expression of integrin and receptor tyrosine kinase during autograft fusion in the sponge // Cell Adhes. Commun. 1999. Vol. 7. P. 111–124.

Wittwer D., Franchini A. et al. Presence of Il-1 and TNF-like molecules in Galleria mellonella // Cytocine. 1999. Vol. 11. P. 637–642.

Yoder J.A., Litman G.W. Immune-type diversity in the absence of somatic rearrangement // Curr. Top. Microbiol. Immunol. 2000. Vol. 248. P. 271–282.

Yoder J.A., Mueller M. G. et al. Immune-type receptor genes in zebrafish share genetic and functional properties with genes encoded by the mammalian leukocyte receptor cluster // PNAS. 2001. Vol. 98. P. 6771–6780.

РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

Абелев Г.И. Врожденный иммунитет. Воспаление // Энциклопедия современного естествознания. М.: Наука. Флинта, 1999. Т. 2 С. 209–213.

Абелев Г.И. Основы приобретенного иммунитета. Энциклопедия современного естествознания // М.: Наука. Флинта, 1999. Т. 2. С. 214–219.

Абелев Г.И. Моноклональные антитела // Энциклопедия современного естествознания. М.: Наука. Флинта, 1999. Т. 2. С. 220–224.

Галактионов В.Г. Очерки эволюционной иммунологии. М.: Наука, 1995.

Галактионов В.Г. Генетический контроль взаимодействия иммунокомпетентных клеток // Энциклопедия современного естествознания. М.: Наука. Флинта, 1999. Т. 2. С. 225–230.

Галактионов В.Г. Иммунология. М.: Изд-во МГУ, 2000. 2-е изд.

Галактионов В.Г. Механизмы иммунитета в графической форме. М.: Медицина, 2000.

Кетлинский С.А., Симбирцев А.С., Воробьев А.А. Эндогенные иммунорегуляторы. СПб.: Гиппократ, 1992.

Ройт А., Бростофф Дж., Мейл Д. Иммунология. М.: Мир, 2000.

Ульянкина Т.И. Зарождение иммунологии. М.: Наука, 1994.

Фрейдлин И.С. Клеточные механизмы иммунной защиты организма // Энциклопедия современного естествознания. М.: Наука. Флинта, 1999. Т. 2. С. 231–236.

Фрейдлин И.С. Защита от вирусов с помощью клеток убийц // Энциклопедия современного естествознания. М.: Наука. Флинта, 1999. Т. 2. С. 237–239.

Ярилин А.А., Пинчук В.Г., Гриневич Ю.А. Структура тимуса и дифференцировка Т-лимфоцитов. Киев: Наук. думка, 1991.

Ярилин А.А. Основы иммунологии. М.: Медицина, 1999.

Учебное издание

Галактионов Вадим Геллиевич

Эволюционная иммунология

Зав. редакцией *М.Р. Погосбекова*
Редактор *Т.И. Белова*
Художник *А.С. Скороход*
Компьютерный дизайн и верстка *О.Ю. Ильина*

ИД № 04284 от 15.03.2001.

Подписано в печать 11.01.2005. Формат 70x100/16. Печ. л. 25,5.
Тираж 2000 экз. Тип. зак. № 67.

Международная академическая
издательская компания «Наука/Интерпериодика»
Издательско-книготорговый центр «Академкнига»
117997, Москва, Профсоюзная ул., 90

По вопросам поставок обращаться
в отдел реализации ИКЦ «Академкнига»
Тел./факс: (095) 334-73-18
e-mail: bookreal@maik.ru, web-site: http: // www.akademkniga.com

Книгу ИКЦ «Академкнига» можно приобрести через агентство «Почта-Сервис».
Заказы направлять по адресу: 125413 г. Москва, А/Я 5.
тел.: 453-30-60, 450-60-13, факс: 453-60-13, e-mail: agentstvops@list.ru
Агентство «Почта-Сервис».

Отпечатано с готового оригинал-макета
в ОАО "Чебоксарская типография № 1"
428019, г. Чебоксары, пр. И. Яковлева, 15.

В.Г. ГАЛАКТИОНОВ

ЭВОЛЮЦИОННАЯ ИММУНОЛОГИЯ

Рекомендовано Учебно-методическим объединением по классическому университетскому образованию в качестве учебного пособия для студентов высших учебных заведений, обучающихся по направлению 510600 «Биология» и специальностям 011600 «Биология» и 012000 «Физиология»





МОСКВА
ИКЦ «АКАДЕМКНИГА»
2005



Вадим Геллиевич Галактионов – доктор биологических наук, профессор, ведущий научный сотрудник Института биологии развития РАН им. Н.К.Кольцова. Автор 6 монографий и 200 статей в области генетики и эволюции иммунной системы. На протяжении многих лет В.Г.Галактионов сочетает научную работу с чтением курса лекций по общей иммунологии и иммуноморфологии на биологическом факультете Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова и в Российской медицинской академии постдипломного образования.


ISBN 5-94628-103-8
9 785946 281034